

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

**Perioodil 1953-2011 introdutseeritud seitsme Eesti odrasordi fotosüntees, õhulõhede
juhtivus ning ABA-toimeline õhulõhede regulatsioon põllul ja laboris**

Magistritöö

30 EAP

Liis Rüütel

Juhendaja vanemteadur Ebe Merilo, PhD

TARTU 2017

Perioodil 1953-2011 introdutseeritud seitsme Eesti odrasordi fotosüntees, õhulõhede juhtivus ning ABA-toimeline õhulõhede regulatsioon põllul ja laboris

Lühikokkuvõte: Katsetes põllukultuuridega on leitud, et taimede gaasivahetus – õhulõhede juhtivus (g_s) ja CO_2 assimilatsiooni kiirus (A_{net}) ehk fotosüntees, on sordiaaretuse tulemusena muutunud. Lisaks on leitud gaasivahetustunnuste positiivset korrelatsiooni terasaagiga. Taimede põuataluvuse tõstmiseks otsitakse lahendusi taimehormoon abstsiihapest (ABA) ja selle sünteesi- või signalisatsiooniraja modifitseerimisest. Antud töös uuriti aastatel 1953-2011 aretatud seitsme Eesti suviodra sordi gaasivahetustunnuste ja ABA-tundlikkuse võimalikku muutumist põllu- ja laborikatsetes. Lisaks uuriti gaasivahetustunnuste korrelatsioone terasaagiga – tugevaim seos esines põllukatse kõigi mõõtmiskuupäevade keskmistatud A_{net} väärtuste ja terasaagi vahel. Kokkuvõttes selgus, et sordiaaretuse käigus ei ole muutunud sortide õhulõhede juhtivus ega fotosünteesi kiirus, kuid uuematel sortidel ilmnes laborikatses ABA-tundlikkuse vähenemine, mis võib vähendada uute sortide põuatolerantsust.

Märksõnad: õhulõhede juhtivus, fotosüntees, abstsiihape, oder, terasaak

CERCS kood: B310 Soontaimede füsioloogia

Net assimilation rate, stomatal conductance and ABA-induced stomatal regulation of seven Estonian barley cultivars introduced during 1953-2011: field and laboratory experiments

Abstract: Previously, it has been found that the gas-exchange traits, stomatal conductance (g_s) and CO_2 assimilation rate (A_{net} ; photosynthesis), have changed during crop breeding. As detected earlier, these traits also often positively correlate with the grain yield. Manipulations with phytohormone abscisic acid (ABA) and its synthetic or signaling pathway represent a way to breed more drought-tolerant plants. Here, seven Estonian barley cultivars released during 1953-2011 were used to study the changes in gas-exchange traits and their ABA-sensitivity during breeding and correlations of these traits with grain yield. A positive correlation between averaged A_{net} over the whole measurement period in the field and grain yield was found. In summary, the stomatal conductance and net assimilation rate of seven Estonian barley cultivars have not changed during breeding, but the most recent cultivars showed reduced ABA-sensitivity in the laboratory experiments. Reduced ABA-sensitivity may result in less drought tolerance of these cultivars.

Keywords: stomatal conductance, photosynthesis, abscisic acid, barley, grain yield

CERCS code: B310 Physiology of vascular plants

SISUKORD

SISUKORD	3
KASUTATUD LÜHENDID	5
SISSEJUHATUS	6
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	7
1.1. Õhulõhede tähtsus ja regulatsioon	7
1.2. ABA ja ABA-indutseeritud õhulõhede sulgumine	9
1.3. Õhulõhede regulatsiooni uurimine.....	11
1.4. Saagikusega seotud globaalprobleemid	12
1.5. ABA signaaliraja modifitseerimine sordiaretuse eesmärgil	13
1.6. Sordiaretuse eesmärgid, meetodid ja tulemused	14
1.7. Muutused gaasivahetustunnustes sordiaretuse käigus	15
2. EKSPERIMENTAALOSA	17
2.1. Töö eesmärgid.....	17
2.2. Materjal ja metoodika	18
2.2.1. Põllukatse	18
2.2.2. Laborikatse	19
2.2.2.1. Katse kontroll-lahusega	20
2.2.2.2. Kutikulaarne juhtivus, poolestusaeg, vee kasutamise efektiivsus ja õhulõhede juhtivuse langus	21
2.2.3. Andmeanalüüs	21
2.3. Tulemused ja arutelu.....	22
KOKKUVÕTE	33
Summary.....	34
TÄNUSÕNAD	36
KIRJANDUSE LOETELU.....	37
KASUTATUD VEEBIAADRESSID	44
LISAD	45
LISA 1.....	45
LISA 2.....	46
LISA 3.....	46
LISA 4.....	47
LISA 5.....	48
LISA 6.....	49

LISA 7.....	50
LIHTLITSENTS.....	51

KASUTATUD LÜHENDID

ABA – *abscisic acid*, abstsiihape

ABCB14 – ABC TRANSPORTER B FAMILY MEMBER 14, transporter malaat²⁻ jaoks

AKT1 – ARABIDOPSIS K⁺ TRANSPORTER 1, impordib K⁺ ioone sulgrakku

A_{net} – CO₂ netoassimilatsiooni kiirus; iseloomustab fotosünteesi ja näitab, kui palju CO₂ siseneb lehte (μmol m⁻² s⁻¹)

CPK21/23 – CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 21/23; Ca²⁺-sõltuv kinaas, mis aktiveerib anioonkanalid

CTD – *canopy temperature depression*, lehestiku temperatuuri langus; lehetemperatuuri ja taime ümbritseva õhutemperatuuri vahe

DMSO – dimetüülsulfoksiid

ETKI – Eesti Taimekasvatuse Instituut

GORK – GATED OUTWARDLY-RECTIFYING K⁺ CHANNEL, K⁺ väljavoolukanal

g_s – õhulõhede juhtivus; näitab, kui palju vett aurub lehest (mmol m⁻² s⁻¹)

H⁺-ATPaas – ATP energiat kasutav prootonpump

HI – *harvest index*, saagi indeks

KAT1, 2 – POTASSIUM CHANNEL IN ARABIDOPSIS THALIANA 1, 2, potentsiaalist sõltuv K⁺ ioone sulgrakku transportiv kanal

NRT1.1 – NITRATE TRANSPORTER 1.1, nitraadi sulgrakku importija

OST1 – OPEN STOMATA 1, kinaas, mis aktiveerib SLAC1 ja QUAC1 anioonkanaleid

pH_{KCl} – mullafiltraadi või -suspensiooni happesus

PIP – PLASMA MEMBRANE INTRINSIC PROTEINS, akvaporiniidid

PP2C – TYPE 2C PROTEIN PHOSPHATASE, tüüp 2C fosfataas, takistab kinaaside CPK21/23 ja OST1 aktiveerumist

PPFD – *photosynthetic photon flux density*, fotosünteesiliselt aktiivne kiirgus (μmol m⁻² s⁻¹)

ppm – *parts per million*, osakest miljoni osakese kohta

PYR/PYL/RCAR – PYRABACTIN RESISTANCE/PYR1-LIKE/REGULATORY COMPONENT OF ABA RECEPTOR, ABA retseptor

QUAC1 – QUICK-ACTIVATING ANION CHANNEL 1, anioonide väljavoolukanal

SE – *Standard Error*, standardviga

SLAC1 – SLOW ANION CHANNEL 1, anioonide Cl⁻ ja NO₃⁻ väljavoolukanal

SLAH3 – SLAC1 HOMOLOG 3, anioonide Cl⁻ ja NO₃⁻ väljavoolukanal

WUE, *water-use efficiency*, vee kasutamise efektiivsus; suhe fotosünteesi kiiruse ja transpiratsiooni vahel (μmol CO₂ mmol H₂O⁻¹)

SISSEJUHATUS

Aastaks 2050 ennustatakse rahvaarvu suurenemist 9,7 miljardi inimeseni (UN DESA raport, 2015). Praeguste terasaagiprognoside põhjal tähendaks see toidupuuduse süvenemist. Selleks, et inimkonda ära toita, peaks põllukultuuride saagikus kahekordistuma (Jaggard jt, 2010; Ray jt, 2013). Probleemi lahenduse peaks pakkuma sordiaretus. Oder (*Hordeum vulgare* L.) on üks neljast enim kultiveeritavast teraviljast (Liu jt, 2014), mida kasvatatakse kogu parasvöötmes ja kasutatakse toidu ning loomasöödana ja õlle valmistamisel. Oder on vähenõudlik ja vastupidav põuale. Põud ja sellest tingitud veepuudus on üks peamisi abiootilisi stressitegureid, mis vähendab teraviljasaaki (Hasanuzzaman jt, 2017).

Taime gaasivahetuse ja veeкао regulatsioonis on olulised õhulõhed – avased lehe pinnal, mille kaudu siseneb fotosünteesiks vajalik CO₂ ning väljub veeaur. Taimesiseste ja -väliste signaalide alusel valib taim optimaalse õhulõhede avatuse (Hetherington ja Woodward, 2003). Terasaagi ning põuatolerantsuse tõstmiseks on oluline mõista õhulõhede regulatsiooni molekulaarseid mehhanisme ja geneetilist kontrolli, kuna fotosünteesi kiirus, aga läbi fotosünteesi ka taimne produktsioon ja terasaak, sõltuvad õhulõhede avatusest.

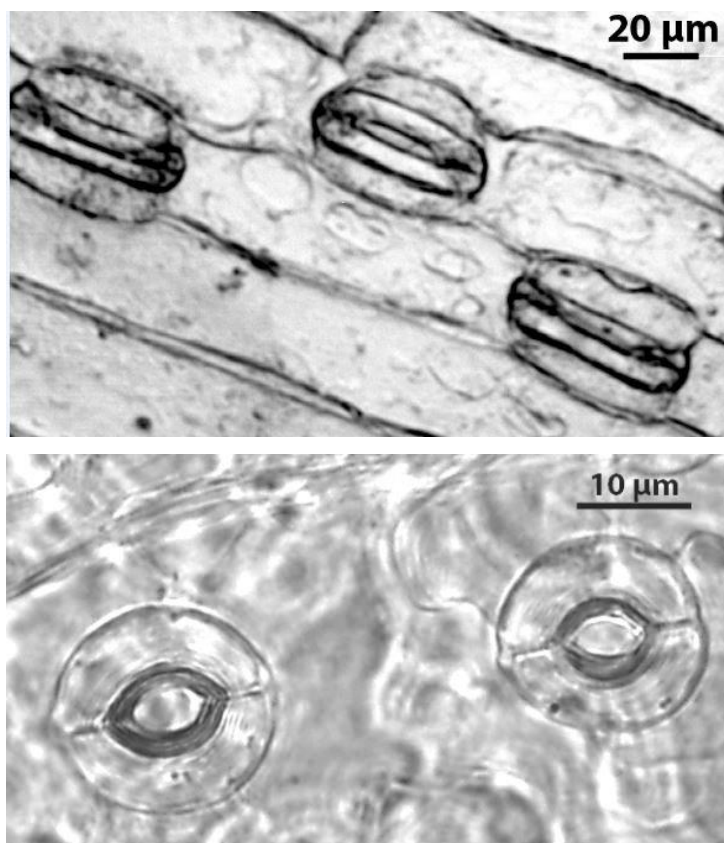
Taimehormoon abstsissihape (ABA) kutsub esile õhulõhede sulgumise stressitingimustes. ABA toimetehhanismid ja signaalirada on hästi teada taimegeneetika mudelorganismi, *Arabidopsis thaliana*, puhul. Arvatakse, et ABA signaaliraja manipuleerimine aitab leida lahenduse põua-, külma- ja soolastressile.

Kuna taimeде gaasivahetus – fotosüntees ja õhulõhede juhtivus on sordiaretuse tulemusena muutunud, siis antud töö eesmärk oli uurida, kas Eesti odrasortide gaasivahetustunnused ja ABA-tundlikkus on aretustöö käigus muutunud ning kuidas mõjub odrale ABAGA pritsimine nii põllul kui ka laboris. Teadaolevalt pole keegi varem põllul kasvavaid taimi ABAGA mõjutanud. Lisaks kasutasin ETKI töötajate kogutud terasaagi andmeid ning uurisin terasaagi korrelatsioone põllul ja laboris mõõdetud gaasivahetustunnustega. Töö valmis Tartu Ülikooli Tehnoloogiainstituudi Taimesignaalide uurimisrühmas koostöös Eesti Taimekasvatuse Instituudiga (ETKI) Jõgeval.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Õhulõhede tähtsus ja regulatsioon

Õhulõhed on taimelehtede pinnal paiknevad avaused, mille moodustavad kaks sulgrakku. Kaheiduleheliste sulgrakud on oakujulised, üheidulehelistel (kõrrelistel) aga hantlikujulised (Joonis 1) ja lisaks ümbritsetud kahe kaasrakuga. Selline anatoomiline eripära võimaldab kõrreliste õhulõhedel kiiremat reageerimist keskkonnamuutustele (Hetherington ja Woodward, 2003; Franks ja Farquhar, 2007; Merilo jt, 2014). Seega, õhulõhed reageerivad keskkonnast tulevatele signaalidele ja kontrollivad samal ajal taime veekadu, mis teeb nad huvipakkuvaks süsteemiks taimebioloogias.



Joonis 1. Õhulõhed ühe- ja kaheidulehelisel taimel. Üleval üheidulehelise odra (*H. vulgare*) õhulõhed ja all kaheidulehelise hariliku müürlooga (*A. thaliana*) õhulõhed. (Ülemine foto: Liis Rüütel; alumine foto: Hanna Hõrak)

Õhulõhede kaudu toimub gaasivahetus taime ja atmosfääri vahel (Roelfsema ja Hedrich, 2005; Kim jt, 2010) – läbi nende siseneb fotosünteesiks vajalik CO₂ ning väljuvad hapnik ja veeaur. Õhulõhesid läbivate gaaside hulka kontrollitakse õhulõhe avatusega, mis on omakorda reguleeritud sulgrakkude turgori ehk siserõhuga (Kollist jt, 2011; 2014). Suure siserõhu korral, mis tekib ionide ja vee liikumisel sulgrakkudesse, on õhulõhed avatud, madala puhul

aga rohkem suletud. Õhulõhed avanevad näiteks valguse, madala CO₂ kontsentratsiooni ja kõrge õhuniiskuse toimetel; sulguvad aga pimeduse, kõrge CO₂ sisalduse, madala õhuniiskuse, mulla veedefitsiidi, abstsessiinide (ABA), saasteainete (O₃, SO₂, NO_x) ja patogeenide mõjul (Emberson jt, 2001; Shimazaki jt, 2007; Vahisalu jt, 2008; McLachlan jt, 2014; Merilo jt, 2014; 2015; Shen jt, 2015; Hõrak jt, 2017).

Õhulõhede sulgumine ja avanemine on seotud erinevate ioonide liikumisega sulgrakkude ja neid ümbritseva keskkonna vahel (Hetherington ja Woodward, 2003; Kollist jt, 2014). Ioonide liikumiseks läbi sulgrakkude plasmamembraani on vaja erinevaid pumpasid, transportereid ja ioonkanaleid. Ioonkanaleid on kaht tüüpi: katioon- ja anioonkanalid vastavalt sellele, milliseid ioone nad transpordivad (Joonis 2) (Kollist jt, 2011; 2014; Hedrich, 2012). Esimesed neist on olulisemad õhulõhede avanemisel, teised aga sulgumisel.

Õhulõhede sulgumisel on olulised kanalid SLAC1 (SLOW ANION CHANNEL 1), SLAH3 (SLAC1 HOMOLOG 3), QUAC1 (QUICK-ACTIVATING ANION CHANNEL 1), GORK1 (GATED OUTWARDLY-RECTIFYING K⁺ CHANNEL) ning PIP-tüüpi akvaporiniidid (PLASMA MEMBRANE INTRINSIC PROTEINS) (Joonis 2).

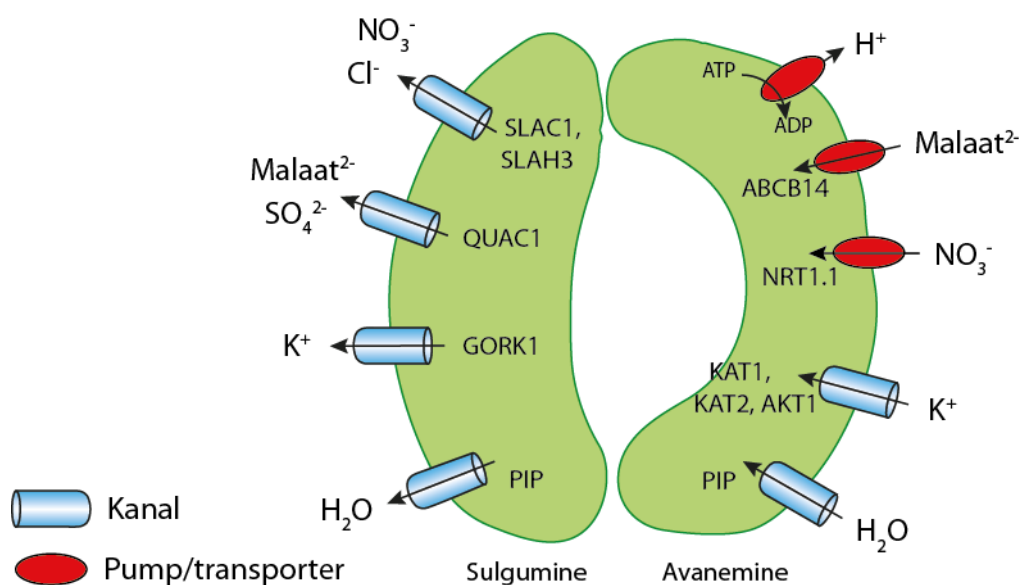
Olulisemad neist on SLAC1 ja SLAH3 (Vahisalu jt, 2008; Geiger jt, 2009; Hedrich, 2012) – need on S-tüüpi (aeglased, *slow-type*) anioonkanalid, mille aktivatsioon toimub sekundite jooksul (Linder ja Raschke, 1992). SLAC1 transpordib eelistatult Cl⁻ ioone ning SLAH3 NO₃⁻ ioone, kuid lasevad läbi mõlemaid (Kollist jt, 2014). SLAC1 avastati *A. thaliana* *slac1* osoonitundlike mutantide uurimisel (Negi jt, 2008; Vahisalu jt, 2008). SLAC1 puudumisel on õhulõhed avatud ning mutantidel on häiritud õhulõhede sulgumine kõrge CO₂ kontsentratsiooni, madala õhuniiskuse ja osooni toimetel (Negi jt, 2008; Vahisalu jt, 2008; Merilo jt, 2013).

QUAC1 on R-tüüpi (kiire, *rapid-type*) anioonkanal (Meyer jt, 2010), mis aktiveerub millisekunditega (Kolb jt, 1995). QUAC1 transpordib orgaanilisi anioone (malaat²⁻) ja sulfaati (SO₄²⁻) (Meyer jt, 2010; Sasaki jt, 2010).

GORK1 on katioonkanal, mille kaudu väljuvad sulgrakust K⁺ ioonid (Ache jt, 2000; Hosy jt, 2003).

Õhulõhede avanemisel olulised kanalid ja pumbad on H⁺-ATPaas, KAT1, KAT2 (POTASSIUM CHANNEL IN ARABIDOPSIS THALIANA 1, 2), AKT1 (ARABIDOPSIS K⁺ TRANSPORTER 1), ABCB14 (ABC TRANSPORTER B FAMILY MEMBER 14), NRT1.1 (NITRATE TRANSPORTER 1.1) ja PIP-tüüpi akvaporiniidid (Joonis 2).

Prootonpumbad (H^+ -ATPaasid) transpordivad ATP energiat kasutades H^+ ioone vastu nende kontsentratsiooni gradienti, tekitades erinevusi membraanipotentsiaalis (Kollist jt, 2014). Sellega hüperpolariseerivad prootonpumbad plasmamembraani, mille tulemusel suureneb plasmamembraani sisepinnal negatiivne laeng, põhjustades potentsiaalset sõltuvate K^+ sissevoolu kanalite (KAT1, KAT2 ja AKT1) aktivatsiooni (Kollist jt, 2011; 2014; Hedrich, 2012). Kõrrelistel liiguvad K^+ ioonid edasi-tagasi sulgrakkude ja kausrakkude vahel, tagades õhulõhede kiirema liikumise (Hetherington ja Woodward, 2003; Franks ja Farquhar, 2007; Merilo jt, 2014). K^+ ionidest tingitud positiivne laeng sulgrakkudes tasakaalustatakse anioonidega ning sulgrakkudesse liigub ka vesi, mille tulemusena õhulõhe avaneb (Kollist jt, 2014). Anioonidena transporditakse sulgrakku ABCB14 kanali kaudu malaat²⁻ (Lee jt, 2008) ja NRT1.1 kaudu NO_3^- (Guo jt, 2003). Läbi PIP-tüüpi akvaporinide (Groszmann jt, 2017) liigub vesi sinna, kus on rohkem ioone ehk väiksem veepotentsiaal (Kollist jt, 2011; 2014). Peamiselt K^+ ionide ladestumine sulgrakkudes kutsub esile õhulõhede avanemise (Kollist jt, 2014). Vastupidiselt K^+ ionidele Ca^{2+} takistab õhulõhede avanemist (De Silva jt, 1985).



Joonis 2. Ioonkanalid ja –pumbad sulgrakkude plasmamembraanis. Mõningad teadaolevad kanalid ja pumbad ionide ja vee transportimiseks sulgrakkudest välja (vasakul), et õhulõhe sulguks ning ionide ja vee transport sulgrakkudesse (paremal) õhulõhe avanemiseks.

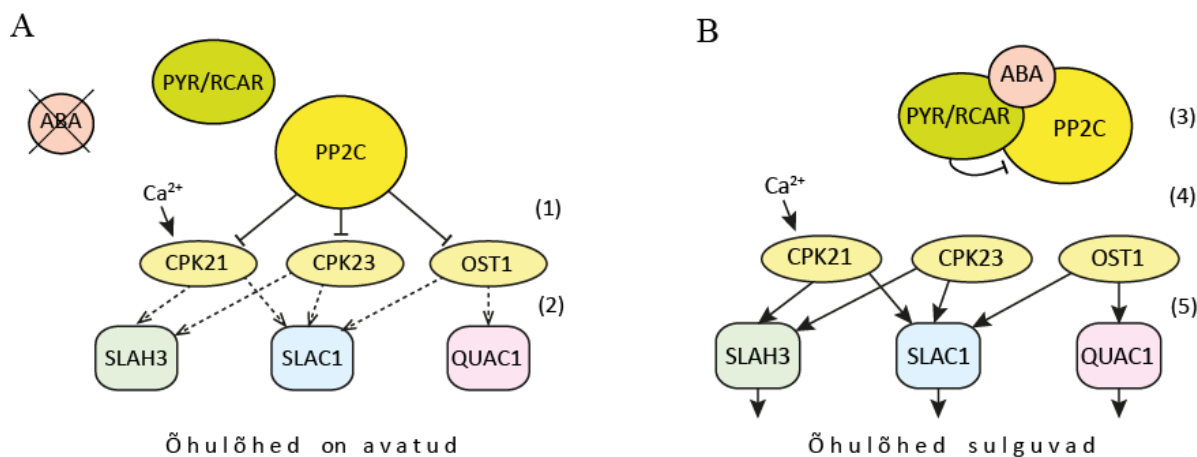
1.2. ABA ja ABA-indutseeritud õhulõhede sulgumine

Abstiishape (ABA) on taimehormoon, mis osaleb paljudes füsioloogilistes protsessides: õhulõhede sulgumises, keskkonnamuutustele reageerimises, kasvu ja seemnete puhkeperioodi regulatsioonis (Cutler jt, 2010; Xu jt, 2013). Eriti oluline on ABA veestressis, mil tema süntees aktiveerub, kutsumaks esile õhulõhede sulgumist ja veekao vähenemist (Kim jt,

2010). Transgeensed taimed, kes toodavad rohkem ABA, on põuale vastupidavamad (Iuchi jt, 2001). Taimedes sünteesitakse ABA *de novo* karotenoididest (Nambara ja Marion-Poll, 2005), protsessi võtmeensüümiks on 9-cis-epoksükarotenoidi dioksügenaas (Iuchi jt, 2001). ABA sünteesitakse kõigis taime kudedes ja transporditakse vajadusel eri kohtadesse (Xu jt, 2013). Kui ABA ei vajata, siis ta laguneb kiiresti. ABA on suhteliselt ebastabiilne – selle poolestusaeg UV-valguses on 24 min (Cao jt, 2013). Sulgrakud on võimelised ise ABA sünteesima ja sellest piisab õhulõhede sulgumiseks (Bauer jt, 2013). Taimevälise ABA mõju õhulõhedele on uuritud nii tervetel taimedel (Merilo jt, 2015) kui ka epidermisest tehtud lõikudel (Shen jt, 2015). ABA mõju odra õhulõhedele on vähe uuritud. Teadaolevalt on seda teinud Shen jt (2015), kes kasutasid epidermise lõike ja leotasid neid erinevate kontsentratsioonidega ABA lahustes. ABA puudumisel või vähenemisel taimes on õhulõhede sulgumine halvenenud (Assmann jt, 2000), mis põhjustab kontrollimatut veekadu ja on eriti kahjulik põuastressis.

Õhulõhe sulgumiseks seondub esmalt ABA molekul tsütosoolis asuvate PYR/PYL/RCAR, edaspidi PYR/RCAR, retseptoritega (PYRABACTIN RESISTANCE/PYR1-LIKE/REGULATORY COMPONENT OF ABA RECEPTOR) (Ma jt, 2009; Park jt, 2009), mille tulemusena moodustub kompleks ABA, tema retseptorite ja PP2C fosfataaside (TYPE 2C PROTEIN PHOSPHATASES) vahel (Joonis 3B). Selle kompleksi moodustumisel PP2C fosfataasid inaktiveeruvad, mis tähendab, et nad ei defosforüleeri enam kinaase CPK21/23 (CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 21/23) ja OST1 (OPEN STOMATA 1). Kinaasid muutuvad aktiivseks, fosforüleerivad anioonkanalid SLAC1, SLAH3 ja QUAC1, mis aktiveeruvad ja hakkavad anioone sulgrakust välja viima. Selle tulemusena sulgraku plasmamembraan depolariseerub, võimaldades omakorda K^+ väljavoolukanali GORK1 aktiveerumist (Ache jt, 2000). Lisaks inhibeerib ABA plasmamembraani H^+ -ATPaasid (Roelfsema jt, 1998; Hayashi jt, 2011), takistades õhulõhe taasavanemist. Ioonide väljumine sulgrakust vähendab osmootset potentsiaali ning vesi liigub läbi PIP-tüüpi akvaporinide (Groszmann jt, 2017) sulgrakkudest välja ja õhulõhe sulgub (Kollist jt, 2011).

ABA signalisatsiooniraja selgitamisel on olnud palju kasu mutantidest. *A. thaliana* puhul leiti, et ABA PYR/RCAR retseptorite (Gonzalez-Guzman jt, 2012), kinaasi OST1 (Geiger jt, 2009; Lee jt, 2009; Vahisalu jt, 2010; Merilo jt, 2015) ja anioonkanali SLAC1 (Negi jt, 2008; Vahisalu jt, 2008) puudumisel on taim ABA suhtes vähetundlik ning selliste mutantide õhulõhede sulgumine on häiritud.



Joonis 3. Õhulõhede ABA-toimelise sulgumise skeem. (A) Abstsiihappe (ABA) puudumisel on PP2C tüüpi fosfataasid aktiivsed ja defosforüülivad kinaase CPK21/23, OST, takistades nende aktiveerumist (1), mille tulemusena ei ole ka anioonide väljavoolukanalid aktiveerunud (2) ning õhulõhed on avatud. (B) ABA olemasolul moodustub kompleks ABA, ABA PYR/RCAR retseptorite ja PP2C fosfataaside vahel (3), mille tulemusena PP2C fosfataasid inaktiveeruvad ja ei inhibeeri enam kinaase (4). Aktiivsed kinaasid fosforüülivad anioonkanaleid SLAH3, SLAC1 ja QUAC1 (5), mistõttu kanalid aktiveeruvad ja transpordivad anioonid sulgrakkudest välja. Neile järgneb ka vesi läbi akvaporinide ja õhulõhed sulguvad.

1.3. Õhulõhede regulatsiooni uurimine

Õhulõhede avatus ning nende tihedus lehe pinnaühiku kohta määravad, kui palju gaase saab liikuda taime ja teda ümbritseva õhu vahel (Masle jt, 2005; Roelfsema ja Hedrich, 2005). Taime gaasivahetuse mõõtmine võimaldab hinnata õhulõhede avatust. Lihtsaim viis on mõõta õhulõhede juhtivust (g_s), mis näitab, kui palju vett lehest aurub ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Drake jt, 2013). Mida avatumad on õhulõhed, seda suurem on g_s väärtus (Roche, 2015). g_s väärtuse leidmisel kasutatakse otseseid ja kaudseid meetodeid. Kiire tulemuse annab poromeeter, mis on kaasaskantav välitingimustes kasutatav süsteem. Mõõtmisel asetatakse osa taimelehest poromeetri suletud kambris, kuhu pumbatakse esmalt kuiva õhku ning seejärel mõõdetakse, kui kiiresti tõuseb õhuniiskus kambris uuesti teatud piirtasemeni (Delta-T Devices Ltd, 2016). Saadud tulemus näitab lehest auruva vee hulka ehk õhulõhede juhtivust. Teise võimalusena kasutatakse kaasaskantavaid (nt CIRAS ja Li-Cor) või laboritingimustes sobivaid gaasianalüsaatoreid (Kollist jt, 2007), mis määravad H_2O ja CO_2 sisalduse õhus. Nii poromeetri kui ka gaasianalüsaatori puhul peab kogu taim või osa sellest asetuma kinnisesse kambris, kuhu ei pääse gaase ümbritsevast õhust (Kollist jt, 2007).

Kaudsete meetoditena kasutatakse g_s määramisel lehetemperatuuri mõõtmist ja infrapunakaameraga lehestiku pildistamist. Õhulõhedest auruv vesi jahutab lehestikku – mida

madalam on lehetemperatuur, seda suurem on taimede g_s väärtus (Roche, 2015). Lehetemperatuuri saab mõõta infrapunatermomeetriga (Aisawi jt, 2015). Lehestiku pildistamisel kasutatakse soojuskaamera (Merlot jt, 2002). Erinevalt poromeetrist võimaldavad need meetodid uurida korraga suurt hulka taimi. Lehetemperatuuri erinevust taime ümbritsevast õhutemperatuurist iseloomustab lehestiku temperatuuri langus (CTD, °C, *canopy temperature depression*) (Aisawi jt, 2015). Mehhikos läbi viidud katsetes suvinisuga leiti, et CTD korreleerub tugevalt g_s väärtusega ja samuti terasaagiga (Amani jt, 1996; Fischer jt, 1998). Lisaks on lehetemperatuuri määramisel kasutatud õhust, 800 m kõrguselt, infrapunapiltide tegemist, mis annab vaid mõne tunniga tuhandete aretiste CTD väärtuse (Araus jt, 2002).

Õhulõhede avatuse uurimisel on kaudsete meetoditena kasutatud veel kaalukaotuse katset ja kondensatsioonilaikude vaatlemist. Esimesel juhul mõõdetakse taimelt lõigatud lehtede või terve idandi kaalukaotust pikema aja vältel ning teisel juhul vaadeldakse õhulõhedest aurunud vee kondenseerumist Petri tassi kaanele (Pizzio jt, 2013; Jakobson jt, 2016). Need meetodid on lihtsad, kuid annavad üksnes hinnangu g_s väärtusele.

Õhulõhede avatust ja suletust saab hinnata ka mikroskoobipreparaadilt, mõõtes õhupilu suurust, nagu seda on odra puhul teinud Shen jt (2015). Antud protseduur on aga väga töömahukas ja aeganõudev, pealegi väheneb sellise preparaadi sulgrakkude elujõulisus ajas (Shen jt, 2015).

Lisaks vee aurumisele mõõdetakse CO_2 sisenemist lehte ehk CO_2 assimilatsiooni kiirust (A_{net} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Drake jt, 2013). Sarnaselt g_s määramisele kasutatakse A_{net} mõõtmiseks gaasianalüsaatoreid. Teise võimalusena saab kasutada lehe klorofüllü fluorestsentsi mõõtmist (Baker ja Rosenqvist, 2004).

1.4. Saagikusega seotud globaalprobleemid

Maailmas kasvab nõudlus taimse tootmise järele, sest suurenevad rahvaarv, piima- ja lihatoodete ning biokütuste tarbimine (OECD/FAO, 2012). Praeguseid saagiandmeid ja rahvaarvu kasvu vaadates pole prognooside järgi võimalik 2050. aastal ära toita kogu inimkonda (Ray jt, 2013), mis selleks ajaks ulatub 9,7 miljardi inimeseni (UN DESA raport, 2015). Maailma elanikkonna kasv seostub piirkondadega, kus on suur sündimus nagu nt Aafrikas, Indias ja Indoneesias. Mandrite lõikes suureneb elanikkond oluliselt Aasias ja Aafrikas ning väheneb Euroopas (Gerland jt, 2014). Selleks, et inimkonda ära toita, oleks vaja

põllukultuuride toodangut kahekordistada (Ray jt, 2013). Samal ajal jääb aga haritav maa-ala enam-vähem samaks (Jaggard jt, 2010), sest maaharimiseks sobivaid alasid pole eriti kusagilt juurde võtta. Lisaks on leitud, et kliimasoojenemine nihutab kliimavöötmeid põhjapooluse suunas (Mahlstein jt, 2013). Soojenemisega kaasnev kõrgem õhutemperatuur, sademete vähenemine, aurumise suurenemine ja põuaperioodide pikenemine ning sagenemine mõjutavad järgneva 30-90 aasta jooksul rohkem kui kolmandikku maakerast, hõlmates taimede kasvuks väga soodsaid piirkondi (Dai, 2011; 2013; Cook jt, 2014). Seetõttu suureneb vajadus aretada põua- ja haiguskindlaid ning soolatolerantseid sorte. Põud on üks peamisi abiootilisi stressitegureid, mis vähendab oluliselt teraviljasaaki (Hasanuzzaman jt, 2017). Kõigile neile probleemidele püüab leida lahendusi sordiaretus.

Ray jt (2013) uurisid üle maailma saagiandmeid (kogutud aastatel 1961-2008) neljal olulisel põllukultuuril – maisil, riisil, nisul, sojaol – ning leidsid, et nende saagikus on suurenenud vastavalt 1,6%, 1,0%, 0,9% ja 1,3% aastas. Selleks, et terasaak aastaks 2050 kahekordistuks, oleks vaja seda suurendada vähemalt 2,4% aastas, mis praegu näib ebareaalne. Samas selline kõigi globaalsete andmete kokkupanek varjab maailmajagude vahelisi olulisi erinevusi saagikuses. Mõningates Põhja-Ameerika ja Aafrika riikides suureneb maisi saagikus juba ~2,4% aastas. Euroopas on oluline põllukultuur nisu, mille saagikus suureneb <1% aastas (Eestis 1,5% aastas). Seega peavad sordiaretajad tagama taimse produktsiooni tõusu, kusjuures üsna lühikese ajaga. (Ray jt, 2013)

1.5. ABA signaaliraja modifitseerimine sordiaretuse eesmärgil

Teadmised ABA signalisatsioonirajast ja toimetehhanismidest on tekitanud palju ideid, kuidas võiks seda inimeste huvides ära kasutada. ABA kontsentratsioon lehes mõjutab õhulõhede juhtivust: ABA-defitsiitsete mutantide g_s on suurem kui metsiktüüpi taimel (Assmann jt, 2000). Põua korral toodetakse taimes rohkem ABA, et õhulõhed sulguksid (Kim jt, 2010). Kuna õhulõhede avatus on olulisim faktor kontrollimaks taimet veekadu ja põuatolerantsust, on ABA taseme ja tema signalisatsiooniraja manipuleerimine üks võimalus luua põuatolerantsemaid taimi.

Kuna ABA on kallis ning keemiliselt ebastabiilne, lagunedes kiiresti, siis otsitakse ABAt struktuurilt ja toimetelt sarnaseid sünteetilisi molekule (Cao jt, 2013). Teise võimalusena püütakse ABA biosünteesi suurendada – ABA sünteesi geenide üleekspresseerimisel on saadud väga hea põuatolerantsusega taimi (Iuchi jt, 2001). Kui ABA tase on aga pidevalt kõrge, siis mõjub see negatiivselt taimede kasvule ja põllukultuuride saagikusele (Pizzio jt,

2013). Näiteks on leitud, et madalam ABA sisaldus lehtedes takistab õhulõhede sulgumist ja suurendab nende juhtivust keskpäeval (Roche, 2015), mis võib suurendada saagikust ja biomassi, nagu seda on näidatud suvinisu puhul (Read jt, 1991).

Lisaks eelnevale otsitakse lahendusi ABA raja retseptorite muutmisest (Yoo jt, 2009; Mosquna jt, 2011; Pizzio jt, 2013), et vähendada õhulõhede juhtivust, suurendades seeläbi vee kasutamise efektiivsust (Yoo jt, 2009) või põuatolerantsust (Wan jt, 2009; Pizzio jt, 2013), millega võib kaasneda aga saagikuse vähenemine (Roche, 2015). Pizzio jt (2013) leidsid mutatsiooni ABA retseptoris, mille tõttu moodustus ABA retseptori ja PP2C-tüüpi fosfataasi vaheline kompleks ilma ABAta ning paranes oluliselt ABA-sõltuv PP2C inhibeerimine.

1.6. Sordiareetuse eesmärgid, meetodid ja tulemused

Sordiareetuse ajalugu ulatub kaugesse aega (~10 000 a tagasi), mil inimesed hakkasid teadlikult taimi enda tarbeks valima ja kasvatama (Brown jt, 2009). Modernsem sordiareetus sai alguse 20. sajandil Mendeli tööde taasavastamisega (AgriInfo.in, 2015). Sordiareetuse olulisim eesmärk on kultuurtaimede saagikuse suurendamine. Lisaks püütakse parandada saagi kvaliteeti; suurendatakse kahjurite resistentsust, haiguskindlust ning põua-, soola- ja külmatolerantsust; vähendatakse mürkainete sisaldust; lühendatakse valmimisperioodi pikkust; lamandumise vältimiseks vähendatakse taime kõrgust – kõiki neid omadusi jälgitakse aretustöö käigus ning samal ajal on need seotud ka saagikuse suurenemisega. (AgriInfo.in, 2015)

Sordiareetus toimub peamiselt kahel viisil: traditsiooniliste ristamistega ning biotehnoloogilisi meetodeid kasutades (Roche, 2015). Biotehnoloogiliste meetoditena kasutatakse mutageniseerimist – kiiritamist ja kemikaalidega töötlemist (DMSO, dimetüülsulfoksiid) ning geneetilist modifitseerimist (AgriInfo.in, 2015). Mutageniseerimisele järgneb tavaliselt ristamine. Ristamine on aeganõudev ja töömahukas, samas biotehnoloogilised meetodid annavad sordiareetuses kiiremini tulemusi.

Preece jt (2017) leidsid, et aretustöö tulemusena on praegused teraviljad keskmiselt 50% suurema saagikusega kui nende metsikud eellased. Eelmise sajandi teises pooles alanud (alates 1970ndatest) saagikuse tõus on seotud kääbusjat kasvu põhjustavate geenide (*dwarfing genes*) kasutuselevõttuga, mis on suurendanud HI (*harvest index*, saagi indeks) väärtust (Richards, 2000) ja teiselt poolt agrokemikaalide (väetised, herbitsiidid, insektitsiidid, fungitsiidid) ulatuslikuma kasutamisega (Araus jt, 2002).

Oder on üks neljast enim kultiveeritavast teraviljast (Liu jt, 2014), olles kõige lühema kasvuajaga, temperatuuri ja vee suhtes vähenõudlik ning muutuva veerežiimiga paremini kohastunud kui teised teraviljad (Tamm, 2007), mis võimaldab tal hästi kasvada ka põuastel aladel. Oder on veepuuduses võimeline andma suuremat saaki kui nisu (*Triticum aestivum* L.), tritikale (*Triticum x Secale*) ja kaer (*Avena sativa* L.), kuna odral on ulatuslik juurestik ning kiire ja jõuline kasv vegetatiivsel arenguperioodil (López-Castañeda ja Richards, 1994; Streda jt, 2011). Odra kasvuaega pikendavad ja terasaaki suurendavad pigem jahedad ja niisked ilmad (MES nõuandeteenistus, 2017). Hiljuti avaldatud odra genoomi järjestus (Mascher jt, 2017) võimaldab tulevikus odraga läbi viia täpsemaid molekulaar-geneetilisi uuringuid ja positsioonilist kloneerimist, mistõttu on võimalik muuta kindlaid huvipakkuvaid genoomipiirkondi.

Odra kodustamine toimus ligi 10 000 aastat tagasi (Sakuma jt, 2011), kui inimesed hakkasid toidunappusest tulenevalt Viljaka Poolkuu alal (Edela-Aasias, Tigrisest ja Eufratist Jordaania jõeni) metsikuid eellassorte teadlikult valima ja kasvatama (Brown jt, 2009). Enim tähelepanu pöörati taimede paljunemisvõimele ja valiti hästi levivaid liike (Preece jt, 2017). Valiku tagajärjel kadusid levikut soodustavad kidad ja haagid, et lihtsustada saagi puhastamist, paranes terade idanevus ning saavutati taimede sünkroonne võrsumine ja küpsemine (Brown jt, 2009).

1.7. Muutused gaasivahetustunnustes sordiaretuse käigus

Sordiaretuse eesmärk on saagikuse suurendamine, mistõttu pööratakse palju tähelepanu saagikust iseloomustavatele tunnustele ja nende parandamisele. Samal ajal võivad jääda teised tunnused piisava tähelepanuta. Üks võimalus teravilja saagikust suurendada on fotosünteesivõime parandamine (Ashraf ja Bashir, 2003). Ühesuunalisi järeldusi sordiaretuse mõjust fotosünteesile on raske teha, sest aretuse tulemusena on täheldatud nii fotosünteesi suurenemist (nisu, Fischer jt, 1998; De Vita jt, 2007; Zheng jt, 2011), samaks jäämist (mais, Tollenaar and Wu, 1999; nisu, Sadras jt, 2012) kui ka vähenemist (nisu, Koc jt, 2003).

Kui saagikust suurendada fotosünteesi tõstmise läbi, siis peab taime sisenema rohkem CO₂, mis on võimalik tänu g_s suurendamisele (Hetherington ja Woodward, 2003). g_s suurenemist sordiaretuse käigus on täheldatud puuvillal (Lu jt, 1998), suvinisul (Fischer jt, 1998; Lu jt, 1998) ning sojaoal (Morrison jt, 1999; Koester jt, 2016). Roche (2015) märgib, et viimase 50-80 aasta sordiaretuse käigus on teraviljade g_s tahtmatult suurenenud, ehkki see pole olnud sordiaretuse otsene eesmärk. Samas mõonab ta, et sordiaretuses on g_s olulisusele vähe

tähelepanu pööratud – g_s on ainulaadne tunnus, mille abil võiks terasaaki suurendada, kuna on leitud seoseid g_s väärtuse ja aretusaasta vahel (Lu jt, 1998; Morrison jt, 1999; Miri, 2009) ning g_s väärtuse ja terasaagi vahel (Lu jt, 1998; Fischer jt, 1998; Zheng jt, 2011).

Samas, mida suurem on g_s , seda suurem on taime veekaotus, mistõttu sordiaretus suurema g_s suunas eeldab piisava mullavee olemasolu. Seepärast tahetakse pigem vähendada g_s väärtust (Yoo jt, 2009), eriti põuastel aladel, et parandada taimede vee kasutamise efektiivsust (WUE). Kuna WUE on suhe A_{net} ja transpiratsiooni vahel (Tambussi jt, 2007), siis nende gaasivahetustunnuste muutmisega on sordiaretuses võimalik taimede WUEd muuta. WUE suureneb, kui g_s väheneb (Van Den Boogaard jt, 1997; Ashraf ja Bashir, 2003). g_s väärtus väheneb siis, kui õhulõhed on kas rohkem suletud või on vähenenud nende tihedus (Masle jt, 2005). Roche (2015) väidab, et g_s väärtuse kahanemine ja WUE suurenemine võivad saagikust vähendada. Hughes jt (2017) leidsid aga hiljuti, et odra õhulõhede tiheduse (ja sellega seoses g_s väärtuse) vähendamisega ei kaasnenud muutusi saagis.

Kuna transpiratsioonil on jahutav efekt, siis suurem g_s tagab madalama lehetemperatuuri (Roche, 2015), kaitstes taime ülekuumenemise eest. Fischer jt (1998) leidsid, et aretuse käigus on vähenenud lehestiku temperatuur ning see oli tugevalt seotud saagikuse suurenemisega.

Kokkuvõttes oleks vaja aretada põuatolerantseid ja muutuvate kliimatingimustega hästi kohanevaid taimi, kes annaksid samal ajal head saaki ning oleksid parema vee kasutamise efektiivsusega.

2. EKSPERIMENTAALOSA

2.1. Töö eesmärgid

Teravilja sordiaretuse peamine eesmärk on saagikuse suurendamine, mis saavutatakse eri tunnuste esiletoomise ja parandamisega. Sellega võivad tahtmatult kaasneda muudatused taime teistes omadustes, näiteks gaasivahetust iseloomustavates tunnustes, mida aretuse käigus otseselt ei jälgita.

Käesoleva töö eesmärgiks oli uurida,

- 1) kuidas on muutunud Eesti odrasortide õhulõhede juhtivus (g_s), fotosünteesi kiirus (A_{net}) ja tundlikkus taimehormoon abtsiishappele (ABA) aretuse käigus 58 aasta jooksul ning
- 2) kuidas seostuvad gaasivahetustunnused (g_s ja A_{net}) terasaagiga.

Põllukatsed viidi läbi Eesti Taimekasvatuse Instituudi (ETKI) põldudel Jõgeval, ABAGA pritsimise ning gaasivahetustunnuste mõõtmise teostasime Taimesignaalide uurimisgrupi tööühmaga. Terasaagi andmed on saadud ETKI töötajatelt. Laborikatses mõõtsin põllukatses olnud odrasortide gaasivahetustunnuseid ja ABA-tundlikkust laboriaparatuuriga.

2.2. Materjal ja metoodika

2.2.1. Põllukatse

Põllukatse viisime läbi seitsme ETKIs aretatud suviodra (*Hordeum vulgare*) sordiga: Jõgeva (aretusaasta 1953), Miina (1981), Esme (1983), Elo (1989), Anni (1993), Leeni (2007) ja Maali (2011) (Lisa 1). Katsed toimusid 2016. aasta suvel ETKI põllul Jõgevamaal (58°45'31.5"N 26°24'48.6"E). Põllumulla tüüp oli leetjas (Penu, 2006), liivsavi tekstuuri ja keemilise koostisega: C_{org} 1,5%; P 154; K 206; Ca 1422; Mg 80; Mn 111; Cu 1,3; B 0,98 mg kg⁻¹; happesusega pH_{KCl} 5,8 (ETKI).

ETKI töötajad külvasid 1. mail igat sorti üheksale 5 m² suurusele katselapile, reavahega 12,5 cm ja tihedusega 500 eelidandatud tera ruutmeetrile. Enne külvi töödeldi seemned fungitsiidse puhtimisvahendiga Maxim Star; 1,5 l t⁻¹ (toimeained 18,8 g l⁻¹ fludioksoniil; 6,3 g l⁻¹ tsüprokonasool; tootja: Syngenta Agro SAS). 23. mail tehti umbrohutõrje taimede 3-4 lehe kasvufaasis herbitsiidiga Sekator OD; 0,15 kg ha⁻¹ (toimeained 100 g l⁻¹ amidosulfuroon; 25 g l⁻¹ metüüljodosulfuroon-naatrium; tootja: Bayer CropScience AG). Nimetatud töötlusted teostati ETKI töötajate poolt.

Suve jooksul pritsisime kuuel korral iga sordi kolme katseruutu 10 µM ABA lahusega, kolme katseruutu kontroll-lahusega ning kolm ruutu jäid töötlemata kontrollaladeks. Töödeldavatele aladele (2*105 m²) pritsisime korraga vastavalt 10 l ABA lahust ja 10 l kontroll-lahust. ABA lahus sisaldas lisaks ABAlle etanooli (0,05%) ja detergienti Silwet L-77 (0,012%, tootja Duchefa). Kontroll-lahus koosnes etanoolist (0,05%), Silwetist (0,012%) ja veest. Pritsimised teostasime nähtava lipulehe (peavõrse ülemine leht) kasvustaadiumist kuni terade täieliku küpsuseni ehk arenguetaapidel BBCH 39-89 (Lancashire jt, 1991).

Tund pärast pritsimist alustasime gaasivahetuse (g_s, A_{net}) mõõtmist peavõrse eelviimasel lehel, lehe keskosast. Peavõrse eelviimane leht annab odral terade täitmiseks kõige rohkem (Jenkyn ja Anilkumar, 1990; Abeledo jt, 2014). Pritsimist ja järgnevat gaasivahetustunnuste mõõtmist tegime kokku kuuel korral: 7.06, 17.06, 28.06, 06.07, 19.07 ja 27.07. g_s väärtusi mõõtsime AP4 poromeetriga (Delta-T Devices, UK) ning A_{net} CIRAS-2ga (PP Systems, Hitchin, UK). Poromeeter ja CIRAS-2 on spetsiaalselt välitingimustes kasutatavad kaasaskantavad süsteemid taimede gaasivahetuse mõõtmiseks (Delta-T Devices Ltd, 2016; Nu-Tech International, 1992). CIRAS-2 mõõdab nii g_s kui ka A_{net} väärtusi, poromeeter aga ainult g_s. A_{net} mõõtmise ajal hoiti lehe temperatuur 25 °C juures ja fotosünteesiliselt aktiivse

kiirguse (PPFD, *photosynthetic photon flux density*) väärtus oli $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Mõõtmised teostasime ajavahemikus 11.00-15.00. Kuna odral asuvad õhulõhed lehe mõlemal küljel, siis mõõtsime g_s väärtuse nii lehe alumisel (*abaxial*) kui ka ülemisel (*adaxial*) poolel – nende summana leidsime lehe õhulõhede juhtivuse. Kasutades kaht poromeetrit saime g_s väärtused kahes korduses ühe katseruudu kohta ja hiljem arvutasin nende aritmeetilise keskmise. Kuna stabiilse A_{net} väärtuse saamine võtab kauem aega ja CIRASeid oli ainult üks, siis A_{net} väärtuse mõõtsime ühes korduses katseruudu kohta.

Teravilja koristus toimus 10. augustil – selleks kasutati katseruudu suurusega kohandatud kombaini Hege. Saak kuivatati, puhastati, mõõdeti niiskusesisaldus ning arvutati seejärel standardsele 14% niiskusesisaldusega hektarisaagile. Teraviljakoristus ja terasaagi määramine tehti ETKI töötajate poolt.

2.2.2. Laborikatse

Laborikatse viisin läbi samade odrasortidega – taimede kasvatamiseks kasutasin töötlemata katseala otrade seemneid. Kõigepealt idandasin seemned niiske paberrätiku vahel kaanega Petri tassil. Umbes nelja päeva pärast istutasin idandid 1-liitristesse kasvupottidesse – igasse kaks taime. Kasvusubstraat sisaldas turvast (Kekkilä OY) ja vermikuliiti (Vermipu OY) suhtes 2:1 ning vett lisasin 85% mullavee sisalduseni. Taimed kasvasid kasvukambris (PGC-105, Percival Scientific Inc.), kus valgusperioodi pikkus oli 12/12 h, temperatuur $23^\circ\text{C}/18^\circ\text{C}$, PPFD $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ja suhteline õhuniiskus 70%. Taimi kastsin altniisutusega vähemalt korra nädalas (~200 ml vett poti kohta). Gaasivahetuskatsetes kasutasin keskmiselt 13 päeva vanuseid taimi, kes olid 2-3 lehe kasvustaadiumis. Mõõtekambris paigutatud lehestiku pindala oli vähemalt 20 cm^2 .

Taimede gaasivahetust mõõtsin selleks spetsiaalselt konstrueeritud aparatuuriga (Hõrak jt, 2017), mille põhiosa moodustavad neli termostateeritud mõõtekambrit (Lisa 2). Mõõtekambrid koosnevad kahest klaasilindrist (sisemine diameeter 10,6 cm, kõrgus 15,6 cm), mille vahele jääb termostateeritud vesi, tagades katse jooksul kambri temperatuuri püsimise määratud suuruse ($24\text{-}25^\circ\text{C}$) juures. Kambrid võimaldavad mõõta kuni 80 cm^2 pindalaga taimede gaasivahetust. Kambri alumise osa moodustab kahest poolest koosnev auguga klaasplaat. Üks klaasplaat on eemaldatav, mis hõlbustab taime fikseerimist kambris. Taime mõõtekambris sätimisel tihendasin avause plastiliiniga, et kambris ei pääseks toaõhku. Teisel osal klaasplaadist on gaaside sisse- ja väljavoolu torud, temperatuuri sensor

ning ventilaator, mis paneb kambris õhu liikuma ja segab gaase. Katseskeemis tekitatakse rõhk 120 mmHg, mis tagab õhu liikumise kogu süsteemis. Selle tulemusena on õhuvoolu kiirus kambris $2,5 \text{ l min}^{-1}$. Kambritesse sisenev õhk võetakse õuest ja suunatakse esmalt 25-liitrisse anumasse, kus see soojeneb toatemperatuurini. Seejärel lisatakse sellele termostaadi abil vajalik õhuniiskus. Iga kambri valgustatus on tagatud nelja 50W halogeenlambiga, mis annavad sõltuvalt regulatsioonist PPFD väärtuse $0\text{--}500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Kambrisse siseneva ja kambrist väljuva õhu CO_2 ja H_2O kontsentratsioonid mõõdetakse gaasianalüsaatoriga (Li-7000, Li-Cor, Nebraska, USA). Ühe kambri mõõtmisele kulub 2 min. Seejärel arvutatakse g_s ja A_{net} väärtused, kasutades selleks spetsiaalselt loodud programmi, mida on kirjeldatud Kollist jt (2007) poolt. g_s väärtuse arvutamisel on vaja teada lehetemperatuuri, mis arvutatakse lähtudes mõõtekambri temperatuurist, valguse neeldumisest tingitud lehetemperatuuri tõusust ning transpiratsioonist tingitud lehetemperatuuri langusest.

Enne ABAGA pritsimist oli taim mõõtekambris kuni g_s väärtuse stabiliseerumiseni, milleks kulus 1–1,5 h. Sel ajal oli kambri CO_2 sisaldus $\sim 400 \text{ ppm}$, suhteline õhuniiskus $\sim 60\%$ ja PPFD $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Kui g_s oli stabiliseerunud, eemaldati taimelt kuni 10 sekundiks kambrikaas ja pritsiti teda $10 \mu\text{M}$ ABA lahusega (4–5 pihustust), mis sisaldas lisaks ABAlle etanooli (0,05%) ja detergendi Silwet L-77 (0,012%). Pärast pritsimist panin kaane tagasi ning mõõtmine jätkus veel 40 minutit. Eksperimendi lõppedes pildistasin (SONY, DSC-RX100) katses olnud odralehed, et arvutada lehepindala, kasutades selleks programmi ImageJ.Ink (National Institutes of Health, USA). Hilisemast andmeanalüüsist jätsin välja need taimed, kelle niiskusgradient enne ABAGA töötlust ei olnud vahemikus $8,2\text{--}10,6 \text{ mmol mol}^{-1}$, kuna nende taimede ABAlle reageerimine võis olla teistsugune tingituna kõrgemast või madalamast õhuniiskusest. Lõpuks jäi iga sordi puhul andmeanalüüsi 6–8 taime.

2.2.2.1. Katse kontroll-lahusega

Kontroll-lahusega (Millipore Milli-Q vesi, 0,05% etanooli, 0,012% detergendi Silwet L-77) pritsisin odrasorte Leeni ($n=3$) ja Esme ($n=4$). Et näha, kas taimed reageerisid kontroll-lahusele, tegin korduvmõõtmistega dispersioonanalüüsi (*Repeated measures ANOVA*) (Lisa 4), millega võrreldi õhulõhede juhtivust vahetult enne töötlust (g_{s0}) ja 16 minutit pärast ABAGA pritsimist (g_{s16}). Analüüsi tulemusena ei olnud g_{s0} ja g_{s16} üksteisest statistiliselt oluliselt erinevad, mis tähendab, et taimed ei reageerinud kontroll-lahusele. Kontrollkatses ilmnis, et vahetult pärast kambri avamist ja taime pritsimist mõõdetud tulemus tuleks välja jätta kui ebastabiilne – avamisega kaasneb kambriõhu segunemine toaõhuga ja esimese 8 min

jooksul täielikku stabiliseerumist veel ei toimu. Seega jätsin ABAGA pritsimise katsetes samuti esimese pritsimisjärgse andmepunkti välja.

2.2.2.2. Kutikulaarne juhtivus, poolestusaeg, vee kasutamise efektiivsus ja õhulõhede juhtivuse langus

Taimed kaotavad vett nii õhulõhede kui ka kutikula kaudu. Läbi kutikula aurub 1-10% kogu taimest transpireeruvast veest (Kerstiens, 1996; 2006). Kutikulaarne juhtivus varieerub liigiti ning seda on vaja teada g_s väärtuse arvutamisel (Kollist jt, 2007). Odra kutikulaarse juhtivuse määramisel kasutasin meetodit, mida on kirjeldanud Jakobson jt (2016), saades väärtuseks $0,03 \text{ cm s}^{-1}$.

Poolestusaeg tähistab aega, mille jooksul toimub pool õhulõhede reaktsioonist ABAGale. Poolestusaeg võimaldab hinnata taimede reaktsioonikiirust.

Lisaks leidsin taimede hetkelise vee kasutamise efektiivsuse (WUE, *water-use efficiency*, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$), mis on arvutatav A_{net} suhtena transpiratsiooni (Tambussi jt, 2007). WUE näitab, kui tõhusalt assimileeritakse süsinikku ja panustatakse biomassi või terasaagi kujunemisse, samal ajal vett kaotades.

Õhulõhede juhtivuse languse arvutasin ABAGale statistiliselt oluliselt reageerinud taimedel. Selleks lahutasin g_{s0} väärtusest (g_s vahetult enne ABAGA pritsimist) g_{s16} väärtuse (g_s 16 min pärast ABAGA pritsimist).

2.2.3. Andmeanalüüs

Statistilise andmeanalüüsi viisin läbi programmiga Statistica (versioon 7.1, StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Et hinnata töötluse, odrasordi ja mõõtekuupäeva mõju lehe gaasivahetustunnustele ja terasaagile, tegin dispersioonanalüüsi (ANOVA, *Analysis of variance*). *Post hoc* testina kasutasin Tukey HSD testi. Veel kasutasin meetodina korduvmõõtmistega dispersioonanalüüsi (*Repeated Measures ANOVA*), et hinnata gaasivahetustunnuste väärtusi enne ja pärast töötlust. Lineaarse regressiooni statistilist olulisust kontrollisin lihtregressioon-analüüsiga, leides R^2 ja p-väärtused. Kõik seosed, mille $P < 0,05$, lugesin statistiliselt olulisteks.

2.3. Tulemused ja arutelu

Õhulõhede juhtivus (g_s) näitab, kui palju vett aurub lehest ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ning CO_2 assimilatsiooni kiirus (A_{net}) iseloomustab CO_2 sisenemist lehte ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), st fotosünteesi (Drake jt, 2013). Põllukatses mõõtsime nimetatud gaasivahetustunnuseid, et hinnata nende võimalikku muutumist sordiaretuse käigus. Lisaks uurisime ABAGA pritsimise mõju ning g_s ja A_{net} seoseid terasaagiga.

Laborikatses mõõtsin heade niiskustingimuste juures juveniilses kasvustaadiumis odrasortide samu tunnuseid (g_s , A_{net}), kasutades teistsugust aparatuuri – spetsiaalset neljakambrilist gaasivahetussüsteemi (Hõrak jt, 2017). Laborikatse eesmärk oli uurida taimede gaasivahetustunnuste võimalikku muutumist aretuse käigus ning ABAGA pritsimise mõju g_s väärtusele laboritingimustes, kus keskkonnavakorid on hästi kontrollitud ja juhuslikkuse mõju minimaalne.

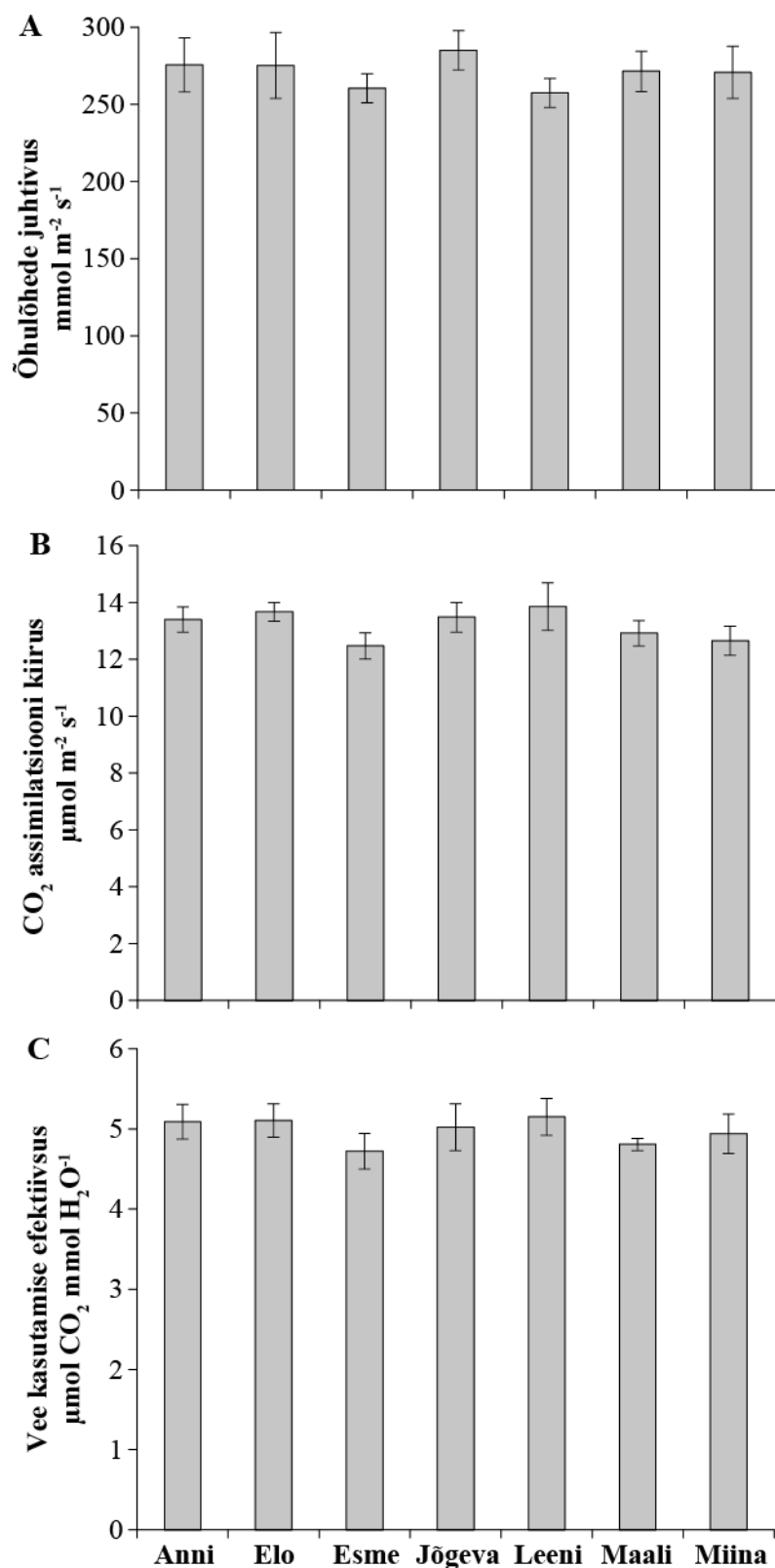
Sordiaretuse käigus ei ole õhulõhede juhtivus ja fotosüntees muutunud

Põllukatse kõikide mõõtmispäevade tulemusi kokku võttes oli sordi mõju statistiliselt oluline nii g_s kui ka A_{net} puhul (Tabel 1), kuid mõõtmispäevi eraldi vaadates ilmnes sordi mõju g_s ja A_{net} väärtustele ainult mõnel juulikuu mõõtmisel (Tabel 1). Siis olid madalaimad g_s väärtused Annil, kõrgemate väärtuste puhul kindlaid sorte ei eristunud (andmeid pole esitatud). Laborikatses ei leitud statistiliselt olulisi erinevusi odrasortide g_s ja A_{net} väärtustes, ega ka vee kasutamise efektiivsuses (WUE) (Joonis 4). Seega, põllu- ja laborikatseid kokku võttes selgus, et uuritud Eesti odrasortide gaasivahetustunnused ei ole aretuse käigus oluliselt muutunud.

Mitmetes töödes on leitud vastupidist – et viimase 50-80 aasta traditsioonilise sordiaretuse käigus on paljude teraviljade g_s ja A_{net} väärtused suurenenud (Sayre jt, 1997; Fischer jt, 1998; Lu jt, 1998; De Vita jt, 2007; Zheng jt, 2011; Roche, 2015; Koester jt, 2016).

Tabel 1. Dispersioonanalüüsi (ANOVA) tulemused, kajastatud P-väärtustena. Sordi, töötluse ja kuupäeva mõju õhulõhede juhtivusele (g_s), CO₂ assimilatsiooni kiirusele (A_{net}) ja terasaagile kõikide mõõtmispäevade andmeid kokku võttes ning eraldi nende päevade kohta, mil tulemus oli statistiliselt oluline ($P < 0,05$). Saagiandmed on saadud ETKIst.

Kõikide mõõtmispäevade keskmistatud andmed			
Tunnus	Sort	Töötlus	Kuupäev
g_s	0,000	0,029	0,000
A_{net}	0,008	0,000	0,000
Terasaak	0,001	0,000	
Mõõtmispäevade kaupa eraldi			
Tunnus	Sort	Töötlus	Kuupäev
g_s	0,002	0,005	6. juuli
g_s	0,003	polnud oluline	19. juuli
A_{net}	0,029	polnud oluline	27. juuli



Joonis 4. Otrade gaasivahetustunnused laboritingimustes. Mõõtsin 10-16 päeva vanuste taimede gaasivahetust spetsiaalse neljakambrilise süsteemiga (Lisa 2; Hõrak jt, 2017). (A) Õhulõhede juhtivus (g_s), (B) CO_2 assimilatsiooni kiirus (A_{net}) ja (C) vee kasutamise efektiivsus (WUE). Joonistel on keskmistatud tulemused \pm SE (*Standard Error*), $n=6-8$ taime. Statistiliselt olulisi erinevusi sortide vahel ei esinenud (ANOVA, $P<0,05$).

Mõõtmiskuupäev oli põllukatses statistiliselt olulise tähtsusega

Üle kogu andmestiku oli nii g_s kui ka A_{net} puhul statistiliselt oluline mõjufaktor mõõtmiskuupäev (Tabel 1). Kõige madalamad g_s väärtused olid esimesel mõõtmispäeval juuni alguses ja viimasel päeval juuli lõpus, kõige kõrgemad aga juuni lõpus. Esimese päeva madalad g_s väärtused olid ilmselt terve maikuu ja juuni esimese nädala kestnud põua tagajärg (Lisa 3). Põuatingimustes väheneb taimede õhulõhede juhtivus, et vett säästa (Farooq jt, 2009). Viimase päeva madalad g_s ja A_{net} väärtused olid seotud sellega, et lehtedes olid alanud vananemisega seotud protsessid. Vananemisega kaasneb klorofüllil lagunemine ning sellega fotosünteesi vähenemine (Hörtensteiner ja Kräutler, 2011). Kõrged A_{net} väärtused juuni teisel poolel viitavad soodsatele tingimustele, mil nii fotosünteesi kui g_s väärtused olid suuremad.

Gaasivahetustunnuste omavahelised seosed

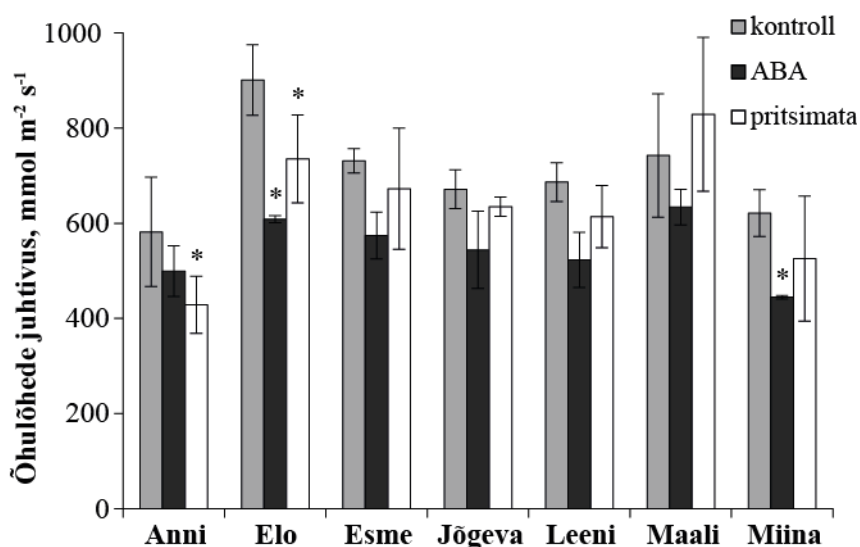
Põllukatse keskmistatud g_s ja A_{net} väärtuste vahel ei leitud statistiliselt olulist seost. Kuna suurem g_s võimaldab efektiivsemat CO_2 assimileerimist (Hetherington ja Woodward, 2003), siis tavaliselt on g_s ja A_{net} vahel selge positiivne seos olemas (Wong jt, 1979; Fischer jt, 1998). Paljudes töödes on uuritud g_s ja A_{net} muutumist aretuse käigus ning nende seoseid terasaagiga (Sayre jt, 1997; Fischer jt, 1998; Zheng jt, 2011; Aisawi jt, 2015), kuid gaasivahetustunnuste omavahelisi korrelatsioone pole sageli esitatud. g_s ja A_{net} vahelise seose puudumist minu katses võib seletada suure varieeruvuse ning juhuslike tegurite osatähtsusega põllukatses.

Põllukatses reageerisid odrasordid ABAga pritsimisele ainult 6. juulil

Põllukatse kõikide mõõtmispäevade tulemusi kokku võttes oli töötluse mõju statistiliselt oluline nii g_s kui ka A_{net} puhul (Tabel 1). Kui aga vaadata mõõtmispäevi eraldi, siis ilmnes töötluse mõju juhtivusele ainult 6. juulil, mil kõigil sortidel olid ABAga pritsitud taimede g_s väärtused madalamad kui kontroll-lahusega pritsitutel (Joonis 5, Tabel 1). Keeruline on leida pädevat seletust, miks ABA mõju avaldus vaid sel ühel päeval kuuest. Kuna kontrollaladel mõõtsime 6. juulil vegetatsiooniperioodi suurimad g_s väärtused, siis võib olla, et lahtisemad õhulõhed soodustasid ABA sisenemist lehte ja seega tagasid ABA-reaktsiooni.

ABA mõju odrale on vähe uuritud, kuid sarnaselt teistele liikidele sulguvad odra õhulõhed vastusena ABAlle ja teistele keskkonnamuutustele (Merilo jt, 2014; Shen jt, 2015). Shen jt (2015) näitasid, et ABA mõju sõltub nii selle kontsentratsioonist kui ka õhutemperatuurist katses. Juba väike kogus ABA (10^{-9} M) põhjustas õhulõhede avatuse vähenemise ning kõige rohkem olid õhulõhed sulgunud 10^{-6} M ABA lahuses. Samal ajal temperatuuri mõju hinnates selgus, et õhulõhed sulgusid ABA toimel kõige rohkem 30 °C juures, võrreldes 20 °C ja 40 °C (Shen jt, 2015). ABA mõju uurimiseks eraldasid Shen ja tema kaastöötajad odra lehe alumiselt poolelt epidermisekihid ning leotasid neid erinevate kontsentratsioonidega ABA lahustes ja mõõtsid seejärel mikroskoobiga õhupilu suurust. Meie kasutasime katsetes teistsugust meetodit – pritsisime ABA lahusega terveid taimi ning mõõtsime siis nende gaasivahetust, mille eeliseks on see, et uuritakse intaktset, tervet taime väga täpselt kontrollitud tingimustes. Shen jt (2015) meetodi puuduseks on sulgrakkude eluvõime vähenemine aja jooksul (eriti nisu puhul), lisaks jääb ainult epidermi uurides arvestamata mesofüllil mõju õhulõhede regulatsioonile.

Arvestades, et ABAGA pritsimise mõju gaasivahetustunnustele oli üldiselt väike, on raske seletada töötluste st ABA mõju terasaagile (Tabel 1). ABA kiirendab lehtede vananemist (Zhao jt, 2016), mis võib seletada ABAGA pritsimise mõju terasaagile. Kuna varem ei ole ABA mõju neile tunnustele uuritud, siis ei olnud antud tulemusi võimalik teistega võrrelda.



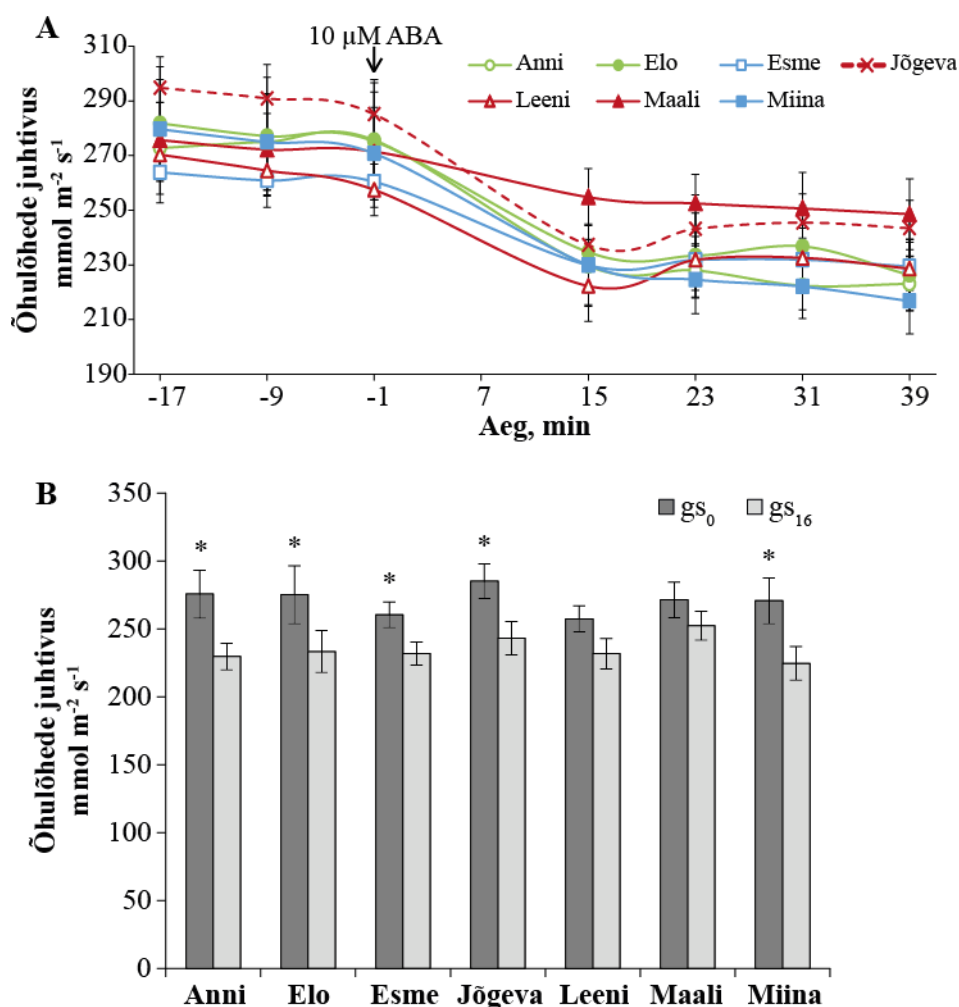
Joonis 5. Põllukatses mõõdetud õhulõhede juhtivused (g_s) 6. juulil, mil lisaks sordile mõjutas juhtivust töötlus: ABAGA pritsitud taimede g_s väärtused olid madalamad kui kontrolllahusega pritsitud taimedel. Joonisel on keskmistatud tulemused \pm SE, $n=3$.

* märgib statistiliselt olulist erinevust kontrollist ($P<0,05$) sama sordi piires.

Statistilise andmeanalüüsi tabelid antud joonise kohta on leitavad Lisas 5.

Uute odrasortide Leeni ja Maali ABA-tundlikkus oli laborikatses vähenenud

Laborikatses reageerisid kõik odrasordid ABAGA pritsimisele g_s väärtuse vähenemisega, kuid kahe sordi, Leeni ja Maali, puhul ei olnud see statistiliselt oluline (*Repeated Measures ANOVA*) (Joonis 6A; B). Maali ja Leeni on kõige uuemad sordid, aretatud sel sajandil (Lisa 1). Näib, et nende ABA-tundlikkus on sordiaretuse käigus vähenenud. Tegemist on üllatava tulemusega – kui sordiaretuse käigus väheneb tahtmatult ABA-tundlikkus, siis sellega võib kaasneda väiksem põuataluvus (Farooq jt, 2009) ning veestressist tingitud saagikadude suurenemine (Araus jt, 2002). Kuna sordiaretuse käigus toimuvat ABA-tundlikkuse muutust pole üldse uuritud, siis ei olnud võimalik seda üllatavat tulemust teistega võrrelda.



Joonis 6. Otrade õhulõhede reaktsioon ABAlle laboritingimustes. Kasutasin 10-16 päeva vanuseid taimi ja neljakambrilist gaasivahetussüsteemi (Lisa 2; Hõrak jt, 2017).

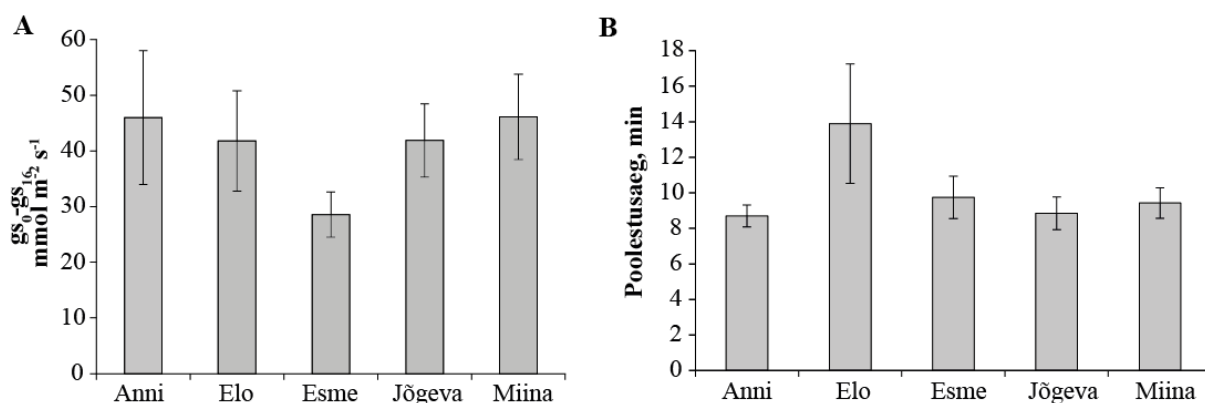
(A) Pritsisin otrasid 10 μ M ABA lahusega ajahetkel -1, mille tulemusena g_s väärtus vähenes.

(B) g_s väärtused enne ABAGA pritsimist (g_{s0}) ja 16 min pärast pritsimist (g_{s16}).

Joonistel on keskmistatud tulemused \pm SE, $n=6-8$ taimi.

* märgib statistiliselt olulist erinevust ($P<0,05$) antud sordi g_s väärtuses enne ja pärast töötlust, kirjeldades ABAlle reageerimist. Statistilise andmeanalüüsi tabelid on leitavad Lisas 6.

Laborikatses ABAlle statistiliselt oluliselt reageerinud odrasortidel arvutasin õhulõhede juhtivuse languse ning poolestusaja, nagu metoodikas kirjeldatud. Nii ABA mõjul toimuv g_s väärtuse langus (Joonis 7A) kui reaktsiooni poolestusaeg (Joonis 7B) olid sortide jaoks statistiliselt sarnased. ABA-toimeline g_s väärtuse langus 16 min jooksul jäi vahemikku 11-16%, mis on väiksem kui varem Taimesignaalide uurimiserühmas mõõdetud odra õhulõhede reaktsioon ABAlle (45%, Ebe Merilo; personaalne kommunikatsioon). Ehkki varem mõõdetud otrade puhul polnud tegemist Eesti sortidega, on raske uskuda, et ABA-tundlikkus nimelt Eesti sortides on vähenenud. Minu taimed olid hästi kastetud ja mullavee defitsiiti polnud, mis võiks vähendada taimede reaktsioonivõimelisust (Farooq jt, 2009). Kuigi ABA-toimeline sulgumine oli võrdlemisi väikese ulatusega, reageerisid taimed ikkagi ABAlle ning poolestusaeg näitab, et pool reaktsioonist toimus keskmiselt 10 min jooksul.



Joonis 7. (A) ABAGA pritsimisele statistiliselt oluliselt reageerinud odrasortide õhulõhede juhtivuse langus esimese 16 min jooksul ($g_{s0}-g_{s16}$) pärast ABAGA pritsimist ning (B) reaktsiooni poolestusaeg, mis kirjeldab taimede reaktsioonikiirust. Statistiliselt üksteisest oluliselt erinevaid rühmi siin ei esinenud (ANOVA, $P<0,05$).

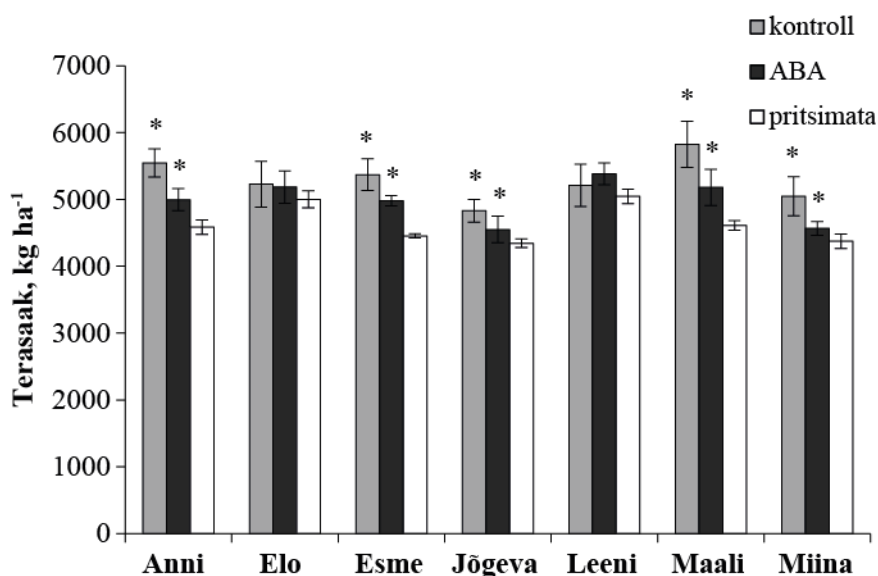
Laborikatses tuli ABAGA pritsimise mõju selgemini esile kui põllukatses. Selle üheks põhjuseks võib olla juhuslikkuse suurem mõju põllul – pole kindel, kas hiljem mõõdetud leheni ABA pritsides üldse sattus. Teiseks, põllul jõudis taimeni väiksem kogus ABA. Ligikaudsete arvestuste kohaselt said põllutaimed neli korda vähem ABA katseala 105 m^2 kohta, võrreldes laboritaimede lehepinnaga. ABA mõju saavutamiseks põllul kuluks seda liiga palju. Kuna ABA on kallis, keemiliselt ebastabiilne ja laguneb kiiresti (Cao jt, 2013), siis pole sellega eriti mõistlik põlde pritsida. Seetõttu otsitakse ABAGA struktuurilt ja toimelt sarnaseid sünteetilisi molekule (Cao jt, 2013), püütakse ABA biosünteesi suurendada (Iuchi jt, 2001) või otsitakse lahendusi ABA raja retseptorite muutmisest (Yoo jt, 2009; Mosquna jt, 2011; Pizzio jt, 2013). Väga lootustandev oleks ABA raja käivitamine spetsiaalselt veestressis, kasutades selleks stressist indutseeritud või koospetsiifilisi promootoreid, mis algatavad

modifitseeritud ABA retseptori ekspressiooni ainult stressi tingimustes või kindlates kudedes (Pizzio jt, 2013).

Terasaak ja selle korrelatsioonid gaasivahetustunnustega

Põllukatse keskmine terasaak oli vahemikus 4,3-5,8 t ha⁻¹ (Joonis 8). Eesti keskmine suviodra saagikus 2016. aastal oli 2,6 t ha⁻¹ (Statistikaamet, 2017), statistikaameti andmetel oli mullune terasaak viimase viie aasta väikseim (Statistikaameti pressiteade nr 12, 2017). Kui võrrelda meie katse terasaaki Eesti keskmise suviodra saagikusega, siis ei olnudki see nii väike – suurem terasaak tulenes katselappide paremini kontrollitud tingimustest ning efektiivsete teraviljakasvatustavade kasutamisest. Kehva saagi 2016. aastal tingisid ebasoodsad ilmaolud: erakordselt soe ja kuiv mai (Lisa 3) tõi kaasa põua ajal, mil toimus võrsumine. Varem on näidatud, et võrsumise ajal on taimed põua suhtes väga tundlikud (Aspinall jt, 1964; Samarah, 2005; Basnayake jt, 2006), see võib omakorda põhjustada saagi vähenemist. Juuni alguse vihmad (Lisa 3) soodustasid järelvõrsumist, mistõttu suurenesid erinevused pea- ja kõrvalvõrsete valmimises – halvenes saagi kvaliteet (MES nõuandeteenistus, 2017). Väga vihmane august (Lisa 3) halvendas samuti saagi kvaliteeti, suurendas saagikadusid koristusel ja põhjustas terade idanemist peas. (Ilmaandmed koostas Laine Keppart ETKIst)

Sordi ja töötamise mõjud terasaagile olid põllukatses statistiliselt olulised (Tabel 1, Lisa 7). Kui aga võrrelda sama sordi erinevaid töötusi või erinevate sortide samu töötusi, (siis olid erinevused väikesed – mitme sordi puhul erines pritsitud (ABA- või kontroll-lahus) ala terasaak pritsimata ala saagist (Joonis 8). Kui vaadata erinevate sortide samade töötuste terasaake, siis olid erinevused väikesed (Joonis 8). Erinevate sortide saagid varieerusid vähe, mis on üllatav, sest sordiaretuse üks eesmärke on saagikuse suurendamine, mida on paljud täheldanud (Waddington jt, 1987; Sayre jt, 1997; Fischer jt, 1998; González jt, 2010; Zheng jt, 2011; Aisawi jt, 2015). Ilmselt oli katseaasta liiga stressirohke (põud, järelvõrsumine, vihmane august) ning uuemate sortide eelised ei tulnud neis tingimustes esile. Teiste töödestki (Sayre jt, 1997; Fischer jt, 1998) ilmneb, et varieeruvates ilmaoludes saadakse aastate lõikes erinevaid tulemusi ja seoseid, mistõttu usaldusväärsema tulemuse saamiseks peaks katset erinevatel aastatel kordama.



Joonis 8. Uuritud seitsme Eesti odrasordi terasaagid kolme töötlusega alalt.

* märgib statistiliselt olulisi erinevusi ($P < 0,05$) pritsimata ja ABA- ning kontroll-lahusega pritsitud ala vahel sama sordi piires. Täpsem statistilise andmeanalüüsi tulemus on Lisas 7.

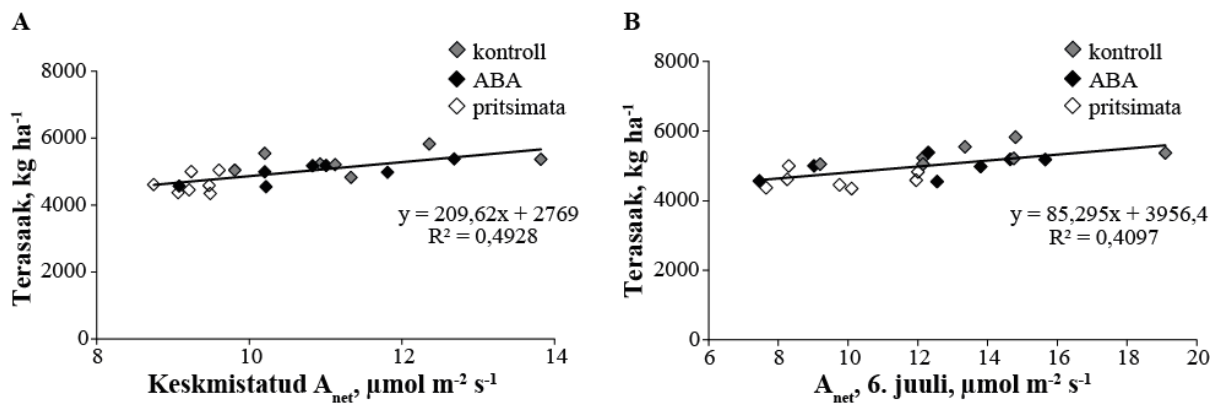
Kasutasin ETKI töötajatelt saadud samade katseruutude saagiandmeid ja uurisin nende seoseid mõõdetud gaasivahetustunnustega. Selgus, et kogu mõõteperioodi keskmistatud A_{net} väärtuste ja terasaagi vahel on positiivne korrelatsioon (Joonis 9A, Tabel 2), seega A_{net} varieeruvus seletas olulise osa kogu terasaagi varieeruvusest. See näitab, et fotosüntees oli terasaagi kujunemisel tähtis. Mõõtmispäevi eraldi vaadates selgus, et terasaak ja 6. juulil mõõdetud A_{net} olid samuti olulises korrelatsioonis (Joonis 9B, Tabel 2). Kuna 6. juuliks oli sademeid olnud piisavalt (Lisa 3), siis taimedel polnud veestressi ja nende õhulõhed olid avatud – mõõtsime samal päeval ka suurimad g_s väärtused. Mida avatumad on aga õhulõhed, seda rohkem sai CO_2 taime siseneda (Hetherington ja Woodward, 2003). Kõrgem fotosüntees on omakorda seotud suurema saagiga, mida varem on leidnud näiteks Lawlor (1995), Fischer jt (1998) ning Zheng jt (2011).

Tabel 2. Korrelatsioonid. Terasaagi ja põllul mõõdetud gaasivahetustunnuste (g_s , A_{net}) vahelised seosed. Valitud ainult need seosed, mille $P < 0,05$. Saagiandmed saadud ETKIst.

Sõltuv muutuja	Sõltumatu muutuja	R^2	P
Terasaak	A_{net} , keskmine	0,49	0,000
Terasaak	A_{net} 06.07	0,41	0,002
Terasaak	A_{net} 27.07	0,25	0,020
Terasaak	g_s 07.06	0,19	0,049
Terasaak	g_s 28.06	0,19	0,049

Terasaagi seos keskmistatud g_s väärtustega puudus. Leiti veel teisigi statistiliselt olulisi seoseid terasaagi ning A_{net} ja g_s väärtuste vahel (Tabelis 2), kuid nende seoste korrelatsioonikordajad olid madalad. Nii g_s kui ka A_{net} korrelatsioone terasaagiga on nisu ja odra puhul leidnud Lawlor (1995); Fischer jt (1998); Gonzalez jt (2010); Zheng jt (2011); Aisawi jt (2015).

Põllult koristatud terasaagi ja laboris mõõdetud gaasivahetustunnuste vahel ei leitud statistiliselt olulisi seoseid. Selle põhjuseks võib olla, et laboris mõõdetud gaasivahetustunnused varieerusid üldse väga vähe.



Joonis 9. Korrelatsioonid (A) terasaagi ja kõigi mõõtmispäevade keskmistatud CO_2 assimilatsiooni kiiruste (A_{net}) vahel ning (B) terasaagi ja 6. juulil mõõdetud A_{net} vahel. Terasaagi andmed mõõdeti ETKI töötajate poolt.

Peamised järeldused

Antud töös saadi ülevaade seitsme Eestis aretatud suviodra sordi gaasivahetustunnustest, ABA-tundlikkusest ja terasaagist. Selgus, et:

- 1) odrasortide gaasivahetustunnused, A_{net} ja g_s , ei ole aretuse käigus oluliselt muutunud;
- 2) laborikatses reageerisid kõik sordid ABAGA pritsimisele g_s väärtuse vähenemisega, kuid kahe uuema sordi, Leeni ja Maali, puhul ei olnud see reaktsioon statistiliselt oluline, mis näitab, et ABA-tundlikkus on sordiaretuse käigus vähenenud;
- 3) ABAST põhjustatud g_s langus tuli laboritingimustes paremini esile kui põllul, mis tähendab, et ABA mõju saavutamiseks põllul tuleks kasutada seda mitmeid kordi rohkem – see oleks aga liiga kulukas;
- 4) erinevad odrasordid ei erinenud üksteisest terasaagi poolest, millest ei saa veel kindlalt järeldada, et sordiaretusega pole terasaak suurenenud. Katseaasta ilmaolud ei olnud soodsad ning uuemate sortide eelised ei pruukinud esile tulla; seega peaks katsed kordama;
- 5) terasaak oli korrelatsioonis põllul mõõdetud keskmistatud A_{net} väärtustega, kuid seos puudus g_s väärtustega.

KOKKUVÕTE

Viimase 50-80 aasta jooksul aretatud sorte uurides võime saada olulist infot selle kohta, mis on aidanud kaasa saagikuse suurendamisele. Saadud teadmiste rakendamine võimaldab tulevikus aretada veel efektiivsemaid või spetsiifiliste omadustega sorte, mis võiksid tagada maailma toiduvarud ja säästa meid toidupuudusest.

Töö põhieesmärk oli uurida seitsme Eestis aretatud odrasordi gaasivahetustunnuste ja ABA-tundlikkuse muutumist sordiaretuse käigus. Selgus, et gaasivahetustunnused, õhulõhede juhtivus ja fotosünteesi kiirus, ei ole selle aretuse käigus muutunud, erinevalt paljude teiste tulemustest. ABA-tundlikkus oli seevastu kahel uuemal sordil, Leenil ja Maalil, vähenenud. See võib neile põuatingimustes kahjulik olla, muutes nad veepuudusele tundlikumaks, mis omakorda võib vähendada nende saagikust veestressi aastatel.

Põuastressis sünteesitav ABA kutsub esile õhulõhede sulgumise ja veekao vähenemise. Taimede ABAGA pritsimine põllul osutus ebaefektiivseks ja vähepraktiliseks. Et ABA mõjuks, tuleks seda kasutada suuremates kogustes, sest laborikatses oli ABA mõju olemas. Kuid ABA on kallis ja ebastabiilne, mistõttu ei ole selle kasutamine põllul eriti mõistlik. Seega tuleb otsida uusi alternatiive ja uurida ABA metabolismi- ning signaaliraja geneetilise modifitseerimise võimalusi. Hetkel paistab lootustandev ABA retseptorite muutmine konstitutiivselt aktiivseks või stressi poolt aktiveeritavaks. Millal sellised põuatolerantsemad taimed aga põllukatseteni jõuavad, on ebaselge, seda eelkõige Euroopas valitseva vastuseisu tõttu geneetilisele modifitseerimisele. Alles põllukatsete järel selgub, kas ja kui palju selliste modifitseeritud taimede terasaagid erinevatel aastatel muutuvad.

Nimelt uurisin mõõdetud gaasivahetustunnuste seoseid ETKI töötajate poolt kogutud saagiandmetega. Terasaak oli positiivses korrelatsioonis kõigi põllukatse mõõtmispäevade keskmistatud A_{net} väärtustega. See viitab, et fotosünteesi kiirus on terasaagi kujunemisel olulise tähtsusega ning g_s ja sellega seotud A_{net} vähenemine võib põllutingimustes anda hoopis negatiivseid tulemusi. Selge on ka see, et ühe katseaasta andmete põhjal ei saa väga suuri järeldusi teha.

**Net assimilation rate, stomatal conductance and ABA-induced stomatal regulation of
seven Estonian barley cultivars introduced during 1953-2011:
field and laboratory experiments**

Liis Rüütel

Summary

World population will increase to 9.7 billion people by 2050 (UN DESA report, 2015). Thus, global crop production needs to double by 2050 to feed all these people (Jaggard *et al.*, 2010; Ray *et al.*, 2013). Plant breeding can help to achieve this. Several studies have shown that gas-exchange traits, stomatal conductance (g_s) and CO_2 assimilation rate (A_{net}), have increased during breeding (Lu *et al.*, 1998; Fischer *et al.*, 1998; Zheng *et al.*, 2011). Drought stress is the main abiotic stress factor, which reduces grain yield (Hasanuzzaman *et al.*, 2017). Modifying plant stress hormone abscisic acid (ABA) synthesis or signaling to optimize plant water use has been intensively discussed, whereas reports addressing ABA treatment in the field conditions are scarce.

The main aims of my thesis were to study changes in gas-exchange traits, g_s and A_{net} , and stomatal ABA-sensitivity among seven Estonian barley cultivars released during 1953-2011 in the field and laboratory conditions. Further, we studied the correlations between g_s and A_{net} determined in the field or in the laboratory and grain yield. Grain yield data were obtained from Estonian Crop Research Institute in Jõgeva.

In the field, plots were sprayed six times during the pre-anthesis and grain filling period with 10 μ M ABA or mock solution or left unsprayed. The values of g_s and A_{net} were measured after treatments by portable gas-exchange devices. The positive correlation between A_{net} or g_s and the year of cultivar release detected earlier for many other crops was not confirmed in our study. In general, ABA spraying had little effect on g_s in the field: ABA significantly closed stomata only on one measurement date. Possibly, more ABA must be sprayed in the field to detect the effect of ABA on stomata. The same physiological characteristics (g_s , A_{net} and ABA-induced stomatal closure) were measured in the laboratory conditions using two-week-old plants and custom-made gas-exchange device. No significant differences in g_s and A_{net} between cultivars were detected. All cultivars showed stomatal closure in response to ABA spraying; however, for two cultivars, Leeni and Maali, this was not significant. As Leeni and Maali are the most recent cultivars, the ABA-sensitivity has decreased during breeding. Reduced ABA-sensitivity might negatively affect the drought-tolerance and yield of these

cultivars in water-stressed conditions. Statistically significant correlation between averaged A_{net} values measured in the field and grain yield was found. Thus, photosynthesis is essential for the yield.

TÄNUSÕNAD

Suur aitäh juhendajale, Ebe Merilole, väärtuslike nõuannete ja abi eest kogu töö valmimisel ning eeskätt andmeanalüüsi teostamisel. Avaldan tänu ETKI Jõgeva töötajatele, kes korraldasid odra kasvatamise ja saagikoristuse; eelkõige Tiia Kangorile, kes käsitles taimepritsi, jagas vaatlus- ja terasaagi andmeid; Laine Keppartile ilmaandmete eest; ning Ülle Tammele odrasortide kirjelduste eest. Tänan ka Pirko Jalakast ja Ingmar Tulvat, kes aitasid mind põllukatse gaasivahetustunnuste mõõtmisel. Aitäh kõigile meie töörühma liikmetele, kes abiks olid või nõu andsid. Tänusõnad Hannes Kollistile, et mulle sai osaks liituda nii torede töörühmaga, võimaldades teha midagi südamelähedast ja põnevat. Aitäh ka pereliikmetele igakülgse toetuse eest. Magistritöö valmimisele aitas kaasa Eesti Teadusagentuur, PUT1133.

KIRJANDUSE LOETELU

- Abeledo L, Savin R, Slafer G** (2014) Leaf photosynthesis during grain filling under mediterranean environments: Are barley or traditional wheat more efficient than modern wheats? *J Agron Crop Sci* **200**: 172–182
- Ache P, Becker D, Ivashikina N, Dietrich P, Roelfsema MRG, Hedrich R** (2000) GORK, a delayed outward rectifier expressed in guard cells of *Arabidopsis thaliana*, is a K⁺-selective, K⁺-sensing ion channel. *FEBS Lett* **486**: 93–98
- Aisawi K, Reynolds MP, Singh RP, Foulkes MJ** (2015) The Physiological Basis of the Genetic Progress in Yield Potential of CIMMYT Spring Wheat Cultivars from 1966 to 2009. *Crop Sci* **55**: 1749–1764
- Amani I, Fischer R, Reynolds M** (1996) Canopy temperature depression association with yield of irrigated spring wheat cultivars in a hot climate. *J Agron Crop Sci* **176**: 119–129
- Araus J, Slafer G, Reynolds M, Royo C** (2002) Plant breeding and drought in C3 cereals: What should we breed for? *Ann Bot* **89**: 925–940
- Ashraf M, Bashir A** (2003) Relationship of photosynthetic capacity at the vegetative stage and during grain development with grain yield of two hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in yield. *Eur J Agron* **19**: 277–287
- Aspinall D, Nicholls PB, May LH** (1964) The effects of soil moisture stress on the growth of barley. I. Vegetative development and grain yield. *Aust J Agric Res* **15**: 729–745
- Assmann SM, Snyder JA, Lee Y-RJ** (2000) ABA-deficient (*aba1*) and ABA-insensitive (*abi1-1*, *abi2-1*) mutants of *Arabidopsis* have a wild-type stomatal response to humidity. *Plant Cell Environ* **23**: 387–395
- Baker NR, Rosenqvist E** (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J Exp Bot* **55**: 1607–1621
- Basnayake J, Fukai S, Ouk M** (2006) Contribution of potential yield, drought tolerance and escape to adaptation of 15 rice varieties in rainfed lowlands in Cambodia. *Proc. Aust. Agron. Conf. Aust. Soc. Agron. Brisb. Aust.*
- Bauer H, Ache P, Lautner S, ... Hedrich R** (2013) The Stomatal Response to Reduced Relative Humidity Requires Guard Cell-Autonomous ABA Synthesis. *Curr Biol* **23**: 53–57
- Brown TA, Jones MK, Powell W, Allaby RG** (2009) The complex origins of domesticated crops in the Fertile Crescent. *Trends Ecol Evol* **24**: 103–109
- Cao M, Liu X, Zhang Y, ... Xu J** (2013) An ABA-mimicking ligand that reduces water loss and promotes drought resistance in plants. *Cell Res* **23**: 1043–1054
- Cook BI, Smerdon JE, Seager R, Coats S** (2014) Global warming and 21st century drying. *Clim Dyn* **43**: 2607–2627
- Cutler SR, Rodriguez PL, Finkelstein RR, Abrams SR** (2010) Abscissic Acid: Emergence of a Core Signaling Network. *Annu Rev Plant Biol* **61**: 651–679

- Dai A** (2011) Drought under global warming: a review. *Wiley Interdiscip Rev Clim Change* **2**: 45–65
- Dai A** (2013) Increasing drought under global warming in observations and models. *Nat Clim Change* **3**: 52–58
- De Silva DLR, Hetherington AM, Mansfield TA** (1985) Synergism Between Calcium Ions and Absciscic Acid in Preventing Stomatal Opening. *New Phytol* **100**: 473–482
- De Vita P, Nicosia OLD, Nigro F, Platani C, Riefolo C, Di Fonzo N, Cattivelli L** (2007) Breeding progress in morpho-physiological, agronomical and qualitative traits of durum wheat cultivars released in Italy during the 20th century. *Eur J Agron* **26**: 39–53
- Drake PL, Froend RH, Franks PJ** (2013) Smaller, faster stomata: scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance. *J Exp Bot* **64**: 495–505
- Emberson LD, Ashmore MR, Murray F, ... Domingos M** (2001) Impacts of Air Pollutants on Vegetation in Developing Countries. *Water Air Soil Pollut* **130**: 107–118
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA** (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron Sustain Dev EDP Sci* **29**: 185–212
- Fischer RA, Rees D, Sayre KD, Lu Z-M, Condon AG, Saavedra AL** (1998) Wheat Yield Progress Associated with Higher Stomatal Conductance and Photosynthetic Rate, and Cooler Canopies. *Crop Sci* **38**: 1467–1475
- Franks PJ, Farquhar GD** (2007) The Mechanical Diversity of Stomata and Its Significance in Gas-Exchange Control. *Plant Physiol* **143**: 78–87
- Geiger D, Scherzer S, Mumm P, ... Hedrich R** (2009) Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair. *Proc Natl Acad Sci* **106**: 21425–21430
- Gerland P, Raftery AE, Ševčíková H, ... Wilmoth J** (2014) World population stabilization unlikely this century. *Science* **346**: 234–237
- González A, Bermejo V, Gimeno BS** (2010) Effect of different physiological traits on grain yield in barley grown under irrigated and terminal water deficit conditions. *J Agric Sci* **148**: 319–328
- Gonzalez-Guzman M, Pizzio GA, Antoni R, ... Rodriguez P** (2012) Arabidopsis PYR/PYL/RCAR Receptors Play a Major Role in Quantitative Regulation of Stomatal Aperture and Transcriptional Response to Absciscic Acid. *Plant Cell Online* **24**: 2483–2496
- Groszmann M, Osborn HL, Evans JR** (2017) Carbon dioxide and water transport through plant aquaporins. *Plant Cell Environ* **40**: 938–961
- Guo F-Q, Young J, Crawford NM** (2003) The Nitrate Transporter AtNRT1.1 (CHL1) Functions in Stomatal Opening and Contributes to Drought Susceptibility in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **15**: 107–117

- Hasanuzzaman M, Shabala L, Brodribb TJ, Zhou M, Shabala S** (2017) Assessing the suitability of various screening methods as a proxy for drought tolerance in barley. *Funct Plant Biol* **44**: 253–266
- Hayashi M, Inoue S, Takahashi K, Kinoshita T** (2011) Immunohistochemical Detection of Blue Light-Induced Phosphorylation of the Plasma Membrane H⁺-ATPase in Stomatal Guard Cells. *Plant Cell Physiol* **52**: 1238–1248
- Hedrich R** (2012) Ion Channels in Plants. *Physiol Rev* **92**: 1777–1811
- Hetherington AM, Woodward FI** (2003) The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* **424**: 901–908
- Hôrak H, Kollist H, Merilo E** (2017) Fern stomatal responses to ABA and CO₂ depend on species and growth conditions. *Plant Physiol* pp.00120.2017
- Hörtensteiner S, Kräutler B** (2011) Chlorophyll breakdown in higher plants. *Biochim Biophys Acta BBA - Bioenerg* **1807**: 977–988
- Hosy E, Vavasseur A, Mouline K, ... Sentenac H** (2003) The *Arabidopsis* outward K⁺ channel GORK is involved in regulation of stomatal movements and plant transpiration. *Proc Natl Acad Sci* **100**: 5549–5554
- Hughes J, Hepworth C, Dutton C, Dunn JA, Hunt L, Stephens J, Cameron D, Waugh R, Gray JE** (2017) Reducing stomatal density in barley improves drought tolerance without impacting on yield. *Plant Physiol* pp.01844.2016
- Iuchi S, Kobayashi M, Taji T, Naramoto M, Seki M, Kato T, Tabata S, Kakubari Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K** (2001) Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant J Cell Mol Biol* **27**: 325–333
- Jaggard KW, Qi A, Ober ES** (2010) Possible changes to arable crop yields by 2050. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **365**: 2835–2851
- Jakobson L, Vaahtera L, Töldsepp K, ... Brosché M** (2016) Natural Variation in *Arabidopsis* Cvi-0 Accession Reveals an Important Role of MPK12 in Guard Cell CO₂ Signaling. *PLOS Biol* **14**: e2000322
- Jenkyn JF, Anilkumar TB** (1990) Effects of defoliation at different growth stages and in different grain-filling environments on the growth and yield of spring barley. *Ann Appl Biol* **116**: 591–599
- Kerstiens G** (1996) Cuticular water permeability and its physiological significance. *J Exp Bot* **47**: 1813–1832
- Kerstiens G** (2006) Water transport in plant cuticles: an update. *J Exp Bot* **57**: 2493–2499
- Kim T-H, Bohmer M, Hu H, Nishimura N, Schroeder JI** (2010) Guard Cell Signal Transduction Network: Advances in Understanding Abscisic Acid, CO₂, and Ca²⁺ Signaling. *Annu Rev Plant Biol* **61**: 561–591
- Koc M, Barutcular C, Genc I** (2003) Photosynthesis and productivity of old and modern durum wheats in a Mediterranean environment. *Crop Sci* **43**: 2089–2098

- Koester RP, Nohl BM, Diers BW, Ainsworth EA** (2016) Has photosynthetic capacity increased with 80 years of soybean breeding? An examination of historical soybean cultivars. *Plant Cell Environ* **39**: 1058–1067
- Kolb H-A, Marten I, Hedrich R** (1995) Hodgkin-Huxley analysis of a GCAC1 anion channel in the plasma membrane of guard cells. *J Membr Biol* **146**: 273–282
- Kollist H, Jossier M, Laanemets K, Thomine S** (2011) Anion channels in plant cells. *FEBS J* **278**: 4277–4292
- Kollist H, Nuhkat M, Roelfsema MRG** (2014) Closing gaps: linking elements that control stomatal movement. *New Phytol* **203**: 44–62
- Kollist T, Moldau H, Rasulov B, Oja V, Rämme H, Hüve K, Jaspers P, Kangasjärvi J, Kollist H** (2007) A novel device detects a rapid ozone-induced transient stomatal closure in intact *Arabidopsis* and its absence in *abi2* mutant. *Physiol Plant* **129**: 796–803
- Lancashire PD, Bleiholder H, Boom TVD, Langelüddeke P, Stauss R, Weber E, Witzenger A** (1991) A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Ann Appl Biol* **119**: 561–601
- Lawlor DW** (1995) Photosynthesis, productivity and environment. *J Exp Bot* **46**: 1449–1461
- Lee M, Choi Y, Burla B, Kim Y-Y, Jeon B, Maeshima M, Yoo J-Y, Martinoia E, Lee Y** (2008) The ABC transporter AtABCB14 is a malate importer and modulates stomatal response to CO₂. *Nat Cell Biol* **10**: 1217–1223
- Lee SC, Lan W, Buchanan BB, Luan S** (2009) A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells. *Proc Natl Acad Sci* **106**: 21419–21424
- Linder B, Raschke K** (1992) A slow anion channel in guard cells, activating at large hyperpolarization, may be principal for stomatal closing. *FEBS Lett* **313**: 27–30
- Liu X, Mak M, Babla M, Wang F, Chen G, Veljanoski F, Wang G, Shabala S, Zhou M, Chen Z-H** (2014) Linking stomatal traits and expression of slow anion channel genes HvSLAH1 and HvSLAC1 with grain yield for increasing salinity tolerance in barley. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2014.00634
- López-Castañeda, Richards RA** (1994) Variation in temperate cereals in rainfed environments III. Water use and water-use efficiency. *Field Crops Res* **39**: 85–98
- Lu Z, Percy RG, Qualset CO, Zeiger E** (1998) Stomatal conductance predicts yields in irrigated Pima cotton and bread wheat grown at high temperatures. *J Exp Bot* **49**: 453–460
- Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y, Christmann A, Grill E** (2009) Regulators of PP2C Phosphatase Activity Function as Abscissic Acid Sensors. *Science* **324**: 1064–1068
- Mahlstein I, Daniel JS, Solomon S** (2013) Pace of shifts in climate regions increases with global temperature. *Nat Clim Change* **3**: 739–743

- Mascher M, Gundlach H, Himmelbach A, ... Stein N** (2017) A chromosome conformation capture ordered sequence of the barley genome. *Nature* **544**: 427–433
- Masle J, Gilmore S, Farquhar G** (2005) The ERECTA gene regulates plant transpiration efficiency in *Arabidopsis*. *Nature* **436**: 866–870
- McLachlan DH, Kopischke M, Robatzek S** (2014) Gate control: guard cell regulation by microbial stress. *New Phytol* **203**: 1049–1063
- Merilo E, Jalakas P, Kollist H, Brosché M** (2015) The Role of ABA Recycling and Transporter Proteins in Rapid Stomatal Responses to Reduced Air Humidity, Elevated CO₂, and Exogenous ABA. *Mol Plant* **8**: 657–659
- Merilo E, Jõesaar I, Brosché M, Kollist H** (2014) To open or to close: species-specific stomatal responses to simultaneously applied opposing environmental factors. *New Phytol* **202**: 499–508
- Merilo E, Laanemets K, Hu H, ... Kollist H** (2013) PYR/RCAR Receptors Contribute to Ozone-, Reduced Air Humidity-, Darkness- and CO₂-Induced Stomatal Regulation. *Plant Physiol* pp.113.220608
- Merlot S, Mustilli A-C, Genty B, North H, Lefebvre V, Sotta B, Vavasseur A, Giraudat J** (2002) Use of infrared thermal imaging to isolate *Arabidopsis* mutants defective in stomatal regulation. *Plant J* **30**: 601–609
- Meyer S, Mumm P, Imes D, Endler A, Weder B, Al-Rasheid KAS, Geiger D, Marten I, Martinoia E, Hedrich R** (2010) *AtALMT12* represents an R-type anion channel required for stomatal movement in *Arabidopsis* guard cells. *Plant J* **63**: 1054–1062
- Miri HR** (2009) GRAIN YIELD AND MORPHO-PHYSIOLOGICAL CHANGES FROM 60 YEARS OF GENETIC IMPROVEMENT OF WHEAT IN IRAN. *Exp Agric* **45**: 149–163
- Morrison MJ, Voldeng HD, Cober ER** (1999) Physiological Changes from 58 Years of Genetic Improvement of Short-Season Soybean Cultivars in Canada. *Agron J* **91**: 685–689
- Mosquna A, Peterson FC, Park S-Y, Lozano-Juste J, Volkman BF, Cutler SR** (2011) Potent and selective activation of abscisic acid receptors in vivo by mutational stabilization of their agonist-bound conformation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**: 20838–20843
- Nambara E, Marion-Poll A** (2005) Absciscic acid biosynthesis and catabolism. *Annu Rev Plant Biol* **56**: 165–185
- Negi J, Matsuda O, Nagasawa T, Oba Y, Takahashi H, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Hashimoto M, Iba K** (2008) CO₂ regulator SLAC1 and its homologues are essential for anion homeostasis in plant cells. *Nature* **452**: 483–486
- Park S-Y, Fung P, Nishimura N, ... Cutler SR** (2009) Absciscic Acid Inhibits Type 2C Protein Phosphatases via the PYR/PYL Family of START Proteins. *Science* **324**: 1068–1071

- Pizzio GA, Rodriguez L, Antoni R, Gonzalez-Guzman M, Yunta C, Merilo E, Kollist H, Albert A, Rodriguez PL** (2013) The PYL4 A194T Mutant Uncovers a Key Role of PYR1-LIKE4/PROTEIN PHOSPHATASE 2CA Interaction for Absciscic Acid Signaling and Plant Drought Resistance. *Plant Physiol* **163**: 441–455
- Preece C, Livarda A, Christin P-A, Wallace M, Martin G, Charles M, Jones G, Rees M, Osborne CP** (2017) How did the domestication of Fertile Crescent grain crops increase their yields? *Funct Ecol* **31**: 387–397
- Ray DK, Mueller ND, West PC, Foley JA** (2013) Yield Trends Are Insufficient to Double Global Crop Production by 2050. *PLOS ONE* **8**: e66428
- Read JJ, Johnson RC, Carver BF, Quarrie SA** (1991) Carbon Isotope Discrimination, Gas Exchange, and Yield of Spring Wheat Selected for Absciscic Acid Content. *Crop Sci* **31**: 139–146
- Richards RA** (2000) Selectable traits to increase crop photosynthesis and yield of grain crops. *J Exp Bot* **51**: 447–458
- Roche D** (2015) Stomatal Conductance Is Essential for Higher Yield Potential of C3 Crops. *Crit Rev Plant Sci* **34**: 429–453
- Roelfsema MRG, Hedrich R** (2005) In the light of stomatal opening: new insights into “the Watergate.” *New Phytol* **167**: 665–691
- Roelfsema MRG, Staal M, Prins HBA** (1998) Blue light-induced apoplastic acidification of *Arabidopsis thaliana* guard cells: Inhibition by ABA is mediated through protein phosphatases. *Physiol Plant* **103**: 466–474
- Sadras VO, Lawson C, Montoro A** (2012) Photosynthetic traits in Australian wheat varieties released between 1958 and 2007. *Field Crops Res* **134**: 19–29
- Sakuma S, Salomon B, Komatsuda T** (2011) The Domestication Syndrome Genes Responsible for the Major Changes in Plant Form in the Triticeae Crops. *Plant Cell Physiol* **52**: 738–749
- Samarah NH** (2005) Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agron Sustain Dev* **25**: 145–149
- Sasaki T, Mori IC, Furuichi T, Munemasa S, Toyooka K, Matsuoka K, Murata Y, Yamamoto Y** (2010) Closing Plant Stomata Requires a Homolog of an Aluminum-Activated Malate Transporter. *Plant Cell Physiol* **51**: 354–365
- Sayre KD, Rajaram S, Fischer RA** (1997) Yield potential progress in short bread wheats in Northwest Mexico.
- Shen L, Sun P, Bonnell VC, Edwards KJ, Hetherington AM, McAinsh MR, Roberts MR** (2015) Measuring stress signaling responses of stomata in isolated epidermis of graminaceous species. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2015.00533
- Shimazaki K, Doi M, Assmann SM, Kinoshita T** (2007) Light Regulation of Stomatal Movement. *Annu Rev Plant Biol* **58**: 219–247

- Streda T, Dostál V, Horáková V, Chloupek O** (2011) Drought and root system size of barley and wheat. *Tag Österr Ges Für Wurzelforschung* **2011**: 65–66
- Tambussi EA, Bort J, Araus JL** (2007) Water use efficiency in C3 cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. *Ann Appl Biol* **150**: 307–321
- Tamm, Ü** (2007) Odra omadused, kasvatamise iseärasused ja enamlevinud sordid väljaandes Millest sõltub teravilja saagikus. Jõgeva Sordiareetuse Instituut, OÜ Vali Press: 26–36.
- Tewolde H, Dobrenz AK, Voigt RL** (1993) Seasonal trends in leaf photosynthesis and stomatal conductance of drought stressed and nonstressed pearl millet as associated to vapor pressure deficit. *Photosynth Res* **38**: 41–49
- Tollenaar M, Wu J** (1999) Yield Improvement in Temperate Maize is Attributable to Greater Stress Tolerance. *Crop Sci* **39**: 1597–1604
- Vahisalu T, Kollist H, Wang Y-F, ... Kangasjärvi J** (2008) SLAC1 is required for plant guard cell S-type anion channel function in stomatal signalling. *Nature* **452**: 487–491
- Vahisalu T, Puzõrjova I, Brosché M, ... Kollist H** (2010) Ozone-triggered rapid stomatal response involves the production of reactive oxygen species, and is controlled by SLAC1 and OST1. *Plant J* **62**: 442–453
- Van Den Boogaard R, Alewijnse D, Veneklaas EJ, Lambers H** (1997) Growth and water-use efficiency of 10 *Triticum aestivum* cultivars at different water availability in relation to allocation of biomass. *Plant Cell Environ* **20**: 200–210
- Waddington SR, Osmanzai M, Yoshida M, Ransom JK** (1987) The yield of durum wheats released in Mexico between 1960 and 1984. *J Agric Sci* **108**: 469–477
- Wan J, Griffiths R, Ying J, McCourt P, Huang Y** (2009) Development of Drought-Tolerant Canola (*Brassica napus* L.) through Genetic Modulation of ABA-mediated Stomatal Responses. *Crop Sci* **49**: 1539–1554
- Wong SC, Cowan IR, Farquhar GD** (1979) Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* **282**: 424–426
- Xu Z-Y, Kim DH, Hwang I** (2013) ABA homeostasis and signaling involving multiple subcellular compartments and multiple receptors. *Plant Cell Rep* **32**: 807–813
- Yoo CY, Pence HE, Hasegawa PM, Mickelbart MV** (2009) Regulation of Transpiration to Improve Crop Water Use. *Crit Rev Plant Sci* **28**: 410–431
- Zhao Y, Chan Z, Gao J, ... Zhu J-K** (2016) ABA receptor PYL9 promotes drought resistance and leaf senescence. *Proc Natl Acad Sci* 201522840
- Zheng TC, Zhang XK, Yin GH, Wang LN, Han YL, Chen L, Huang F, Tang JW, Xia XC, He ZH** (2011) Genetic gains in grain yield, net photosynthesis and stomatal conductance achieved in Henan Province of China between 1981 and 2008. *Field Crops Res* **122**: 225–233

KASUTATUD VEEBIAADRESSID

AgriInfo.in. (2015). My Agriculture Information Book. <http://www.agriinfo.in> (17.05.17)

Delta-T Devices Ltd. (2016). AP4 poromeeter. <http://www.delta-t.co.uk/product/ap4> (15.02.17)

MES nõuandeteenistus. (2017). Suviadra iseloomustus.
http://www.pikk.ee/valdkonnad/taimekasvatus/teraviljakasvatus/suviteraviljad/suviader#.WOoqs_mLTIU (06.03.17)

Nu-Tech International. (1992). CIRAS-2 Portable Photosynthesis System.
<http://www.nutechinternational.com/pp-systems-ciras2.htm> (15.02.17)

OECD/FAO. (2012). OECD-FAO Agricultural Outlook 2012–2021.
http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2012-en (15.05.17)

Penu, Priit (2006). Eesti muldadest põllumehale. <http://pmk.agri.ee/mak/wp-content/uploads/sites/2/2017/01/Eesti-muldadest-p%C3%B5llumehale.pdf> (13.04.17)

Statistikaamet. (2017). Põllukultuuride saagikus. <http://www.stat.ee/34220> (06.03.17)

Statistikaameti pressiteade nr 12. (2017). Mullune teraviljasaak oli viimase viie aasta väikseim. <https://www.stat.ee/pressiteade-2017-012> (06.03.17)

UN DESA raport. The 2015 Revision of World Population Prospects.
<https://esa.un.org/unpd/wpp> (15.05.17)

LISAD

LISA 1

Odrasort	Aretusaasta	Ristamised	Aretuse eesmärgid
Jõgeva	1953	‘Maja’ x ‘Rimpau Hanna’	Seisukindluse parandamine, tera suurendamine
Miina	1981	‘Jõgeva’ x ‘Hylkema’	Seisukindluse parandamine, tera suurendamine, parem mineraalvæetiste kasutamise võime
Esme	1983	‘Foma’ x ‘Hylkema’	Suur saak väiksema väetise ja madalama mullaviljakusega
Elo	1989	‘Triumph’ x ‘Lofa’	Lühikõrreline, seisukindluse parandamine, kasutati õlle ja linnase valmistamisel
Anni	1993	‘Lola’ x ‘Liisa’	Stabiilne terasaak, suur tera ja mahumass, talub nii liigniiskust kui ka põuda
Leeni	2007	546.11.27 x ‘Decor’	Suur terasaak ja mahumass, seisukindluse parandamine, kasvatatav ka mahetingimustes
Maali	2011	8208 x ‘Elo’	Suur terasaak, suur tera ja mahumass, kõrgema proteiini- ja beeta-glükaani sisaldusega, kasvatatav ka mahetingimustes

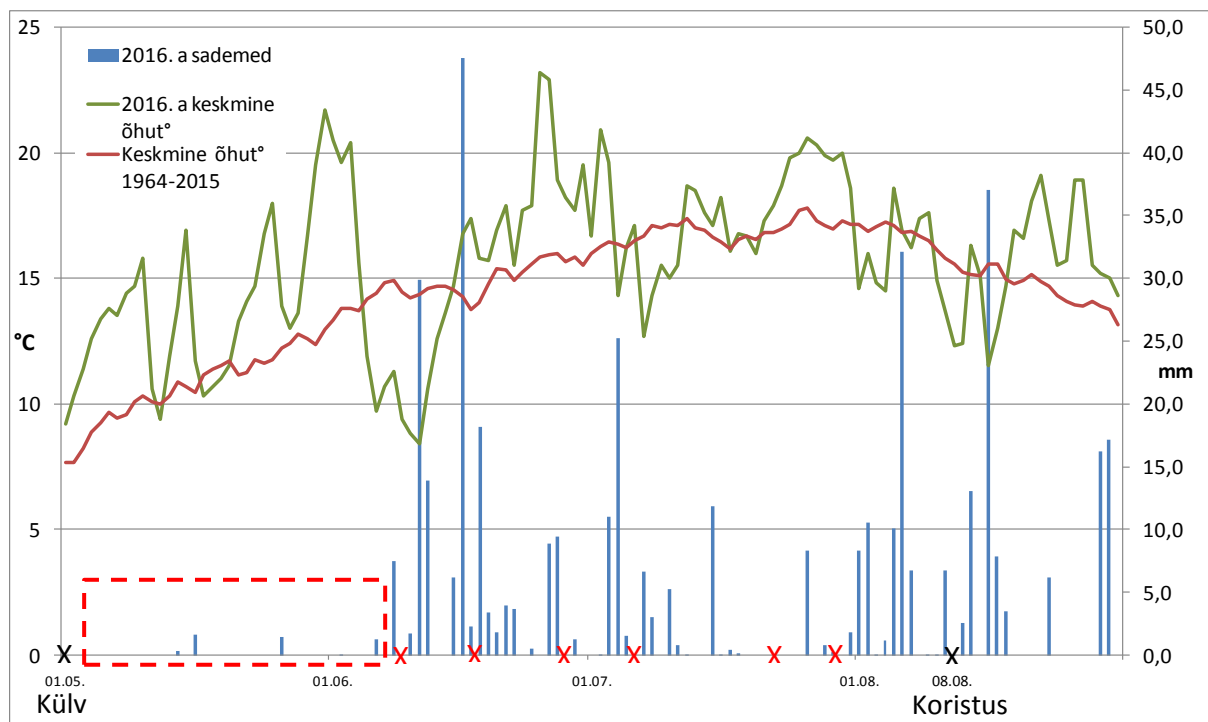
Lisa 1. Ristamiste teel Jõgeval (ETKI) aretatud kaherealised odrasordid, mida käesolevas töös uuriti (Ülle Tamm; personaalne kommunikatsioon).

LISA 2



Lisa 2. Laborikatses kasutatud neljakambriline gaasivahetussüsteem (Foto: Pirkko Jalakas)

LISA 3



Lisa 3. 2016. aasta suvekuude keskmine õhutemperatuur (roheline pidevjoon) võrrelduna 1964.-2015. aasta keskmisega (punane pidevjoon) ja 2016. a sademed (koostanud Laine Keppart, ETKI). Joonist on täiendatud: punane katkendjoon tähistab põuaperioodi, punased ristid märgivad mõõtmispäevi ja mustad külvi ning saagi koristust.

LISA 4

Repeated Measures Analysis of Variance (Kontroll-lahusega pritsimine laboritingimustes) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	P
Intercept	872121.7	1	872121.7	268.3260	0.000015
Sort	12494.4	1	12494.4	3.8442	0.107199
Error	16251.2	5	3250.2		
Treatment	60.9	1	60.9	1.0197	0.358942
Treatment*Sort	16.2	1	16.2	0.2710	0.624887
Error	298.5	5	59.7		

Tukey HSD test; variable DV_1 (Kontroll-lahusega pritsimine laboritingimustes) Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between; Within; Pooled MSe = 1655.0, df = 5.1836				
	Sort	Treatment	gs	a
2	Leeni	gs1	220.9706	****
1	Leeni	gs0	223.0121	****
4	Esme	gs1	279.1653	****
3	Esme	gs0	285.5517	****

Lisa 4. Kontroll-lahusega pritsimine laboritingimustes. Katses kasutasin sorte Leeni (n=3) ja Esme (n=4). Gaasivahetustunnuste mõõtmistulemustega viisin läbi korduvmõõtmistega disperioonianalüüsi (*Repeated Measures ANOVA*), millega uurisin erinevusi õhulõhede juhtivustes enne kontroll-lahusega pritsimist (gs0) ja 16 min pärast pritsimist (gs1). Tukey HSD testis ei eristunud erinevaid gruppe, mis näitab, et uuritud odrasordid ei reageerinud kontroll-lahusega pritsimisele.

LISA 5

Univariate Tests of Significance for gs (sordi ja töötuse mõju 6. juulil) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	P
Intercept	24643137	1	24643137	1276.501	0.000000
Sort	481019	6	80170	4.153	0.002308
Töötus	235143	2	117572	6.090	0.004760
Sort*Töötus	124631	12	10386	0.538	0.877162
Error	810820	42	19305		

Tukey HSD test; variable gs(sordi ja töötuse mõju 6. juulil) Homogenous Groups, alpha = .05000 (Non-Exhaustive Search) Error: Between MSe = 19305., df = 42.000					
	Sort	Töötus	gs	a	b
3	Anni	pritsimata	428.6667	****	
8	Miina	ABA	444.3333	****	
2	Anni	ABA	499.1667	****	****
17	Leeni	ABA	522.8333	****	****
9	Miina	pritsimata	525.5000	****	****
5	Jõgeva	ABA	543.8333	****	****
11	Esme	ABA	574.1667	****	****
1	Anni	kontroll	581.6667	****	****
4	Jõgeva	kontroll	604.6667	****	****
14	Elo	ABA	608.1667	****	****
18	Leeni	pritsimata	613.8333	****	****
7	Miina	kontroll	621.3333	****	****
20	Maali	ABA	633.8333	****	****
6	Jõgeva	pritsimata	634.8333	****	****
12	Esme	pritsimata	672.5000	****	****
16	Leeni	kontroll	686.3333	****	****
10	Esme	kontroll	731.1667	****	****
15	Elo	pritsimata	735.1667	****	****
19	Maali	kontroll	742.3333	****	****
21	Maali	pritsimata	828.6667	****	****
13	Elo	kontroll	901.0000		****

Lisa 5. Statistilise andmeanalüüsi tulemused põllukatse 6. juuli mõõtmispäeva kohta, mil nii sort kui ka töötus olid statistiliselt olulised ($P < 0,05$). *Post hoc* Tukey HSD testi alusel eristuvad kaks gruppi, mis on tähistatud tähtedega a ja b.

LISA 6

Repeated Measures Analysis of Variance (Laborikatse ABAGA pritsimine) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	P
Intercept	6202215	1	6202215	2579.643	0.000000
Sort	4724	6	787	0.327	0.918783
Error	100980	42	2404		
Treatment	30623	1	30623	122.705	0.000000
Treatment*Sort	2382	6	397	1.591	0.173678
Error	10482	42	250		

Tukey HSD test; variable gs (Laborikatse ABAGA pritsimine) Homogenous Groups, alpha = .05000 (Non-Exhaustive Search) Error: Between; Within; Pooled MSe = 1326.9, df = 50.626									
	Sort	Treatment	gs	a	b	c	d	e	f
14	Miina	gs1	224.6099	****	****		****	****	****
6	Anni	gs1	229.6245	****	****	****	****		****
4	Esme	gs1	231.8379	****		****	****	****	****
2	Leeni	gs1	231.8386	****	****	****	****	****	****
8	Elo	gs1	233.3749	****	****	****		****	****
10	Jõgeva	gs1	243.2146	****	****	****	****	****	
12	Maali	gs1	252.4730	****	****	****	****	****	****
1	Leeni	gs0	257.4516	****	****	****	****	****	****
3	Esme	gs0	260.4046		****				
13	Miina	gs0	270.7344			****			
11	Maali	gs0	271.4184	****	****	****	****	****	****
7	Elo	gs0	275.1731				****		
5	Anni	gs0	275.6314					****	
9	Jõgeva	gs0	285.1076						****

Lisa 6. Odrasortide õhulõhede reaktsioon ABAl laboritingimustes. Tegin korduvmõõtmistega disperioonanalüüsi (*Repeated Measures ANOVA*), millega uurisin erinevusi õhulõhede juhtivustes enne ABAGA pritsimist (gs0) ja 16 min pärast pritsimist (gs1) ($P < 0,05$). Tukey HSD testis eristusid grupid a-f. Selle põhjal ei erine gs0 ja gs1 väärtused Leeni ning Maali puhul, mis tähendab, et nad ei reageerinud ABAGA pritsimisele statistiliselt oluliselt.

LISA 7

Univariate Tests of Significance for Terasaak (Sordi ja töötuse mõju terasaagile) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	P
Intercept	1.554545E+09	1	1.554545E+09	12751.99	0.000000
Sort	3.594405E+06	6	5.990675E+05	4.91	0.000691
Töötus	4.613889E+06	2	2.306945E+06	18.92	0.000001
Sort*Töötus	1.590786E+06	12	1.325655E+05	1.09	0.394826
Error	5.120056E+06	42	1.219061E+05		

Tukey HSD test; variable Terasaak (Sordi ja töötuse mõju terasaagile) Homogenous Groups, alpha = .05000 (Non-Exhaustive Search) Error: Between MSe = 1219E2, df = 42.000						
	Sort	Töötus	Terasaak	a	b	c
6	Jõgeva	pritsimata	4345.078	****		
9	Miina	pritsimata	4374.814	****		
12	Esme	pritsimata	4453.605	****		
5	Jõgeva	ABA	4551.264	****	****	
8	Miina	ABA	4566.019	****	****	
3	Anni	pritsimata	4586.225	****	****	
21	Maali	pritsimata	4611.473	****	****	
4	Jõgeva	kontroll	4830.171	****	****	****
11	Esme	ABA	4979.159	****	****	****
2	Anni	ABA	4997.008	****	****	****
15	Elo	pritsimata	5000.558	****	****	****
18	Leeni	pritsimata	5046.554	****	****	****
7	Miina	kontroll	5047.407	****	****	****
20	Maali	ABA	5181.124	****	****	****
14	Elo	ABA	5184.202	****	****	****
16	Leeni	kontroll	5209.864	****	****	****
13	Elo	kontroll	5228.589	****	****	****
10	Esme	kontroll	5369.667	****	****	****
17	Leeni	ABA	5381.876	****	****	****
1	Anni	kontroll	5545.969		****	****
19	Maali	kontroll	5825.318			****

Lisa 7. Sordi ja töötuse mõju terasaagile ($P < 0,05$), kasutasin kõiki põllukatses mõõdetud andmeid. Mõõtmisandmetega viisin läbi dispersioonanalüüsi (ANOVA). Tukey HSD testis eristusid kolm rühma: a, b ja c.

LIHTLITSENTS

Lihlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Liis Rüütel,
(sünnikuupäev: 12.05.1993)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose **Perioodil 1953-2011 introdutseeritud seitsme Eesti odrasordi fotosüntees, õhulõhede juhtivus ning ABA-toimeline õhulõhede regulatsioon põllul ja laboris**, mille juhendaja on Ebe Merilo,
 - 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 30.05.2017